VERZAMELDE GESCHRIFTEN
VAN
M. W. BEIJERINCK

TER GELEGENHEID VAN ZIJN
70STEN VERJAARDAG

MET MEDEWERKING DER NEDERLANDSCHE
REGEERING UITGEGEVEN DOOR ZIJNE
VRIENDEN EN VEREERDERS

TWEEDE DEEL

DELFT / MDCCCCXXI



VERZAMELDE GESCHRIFTEN VAN M. W. BEIJERINCK

VERZAMELDE GESCHRIFTEN

VAN

M. W. BEIJERINCK

TER GELEGENHEID VAN ZIJN
70STEN VERJAARDAG

MET MEDEWERKING DER NEDERLANDSCHE
REGEERING UITGEGEVEN DOOR ZIJNE
VRIENDEN EN VEREERDERS

TWEEDE DEEL

DELFT / MDCCCCXXI

TWEEDE DEEL



Inhoud van het Tweede Deel.

Over gallen aan Cruciferen.

1e Bijlage tot de 30e Jaarvergadering der Nederl. Bot. Vereeniging, 1885.

Bij het onderzoek naar het aantal gallen, die in verschillende afdeelingen van het plantenrijk worden gevonden, is het groote onderscheid dat de groepen in dit opzicht van elkander vertoonen, zeer in 't oog loopend.

In handboeken van Entomologie of Pathologie, waarin over gallen gesproken wordt, vindt men gewoonlijk opgegeven, dat aan Cryptogamen geene gallen voorkomen. Deze opgave is wel onjuist, maar het is toch zeker, dat zij in verhouding tot de Phanerogamen zeer misdeeld zijn. Enkele der meest bekende woekeringen aan Cryptogamen, door vreemde organismen teweeggebracht, breng ik hier in herinnering. Selaginella pentagona *Spring.*, draagt een zeer volkomen gesloten gal van een onbekende Cecidomyia soort (Strasburger, über Lycopodiaceen, Bot. Zeit. 1873, pag. 105). — Azolla wordt bewoond door Nostoc, in de kleine holten der bladen liggen de gelei klompjes die doorwoekerd worden met haren, welke uit de epidermis van het blad ontspringen (Strasburger, über Azolla, Jena 1874, pag. 40). Andere gallen van vaatcryptogamen, zijn mij onbekend: wel bewoont Nostoc vele varen-prothalliën, maar woekeringen daaraan teweeggebracht, vind ik nergens beschreven. Van de Muscineën valt niet veel meer op te merken.

Nostoc lichenoides veroorzaakt een aanzienlijke opzwelling der bladoortjes van Blasia pusilla (Leitgeb, Untersuchungen über die Lebermoose I, Jena 1874, pag. 23). De Nostoc koloniën zijn doorwoekerd met vertakte celdraden, die uitgaan van den benedenrand der oortjes. De verschillende andere geslachten van levermossen, die voor Nostoc tot de geliefkoosde verblijfplaatsen behooren, kan ik hier voorbijgaan, daar hier, evenmin van woekering wordt gewaagd als bij de varenprothalliën.

Ofschoon de gallen der Thallophyten meerder in getal zijn, zoo zijn zij toch uiterst schaars in verhouding tot het aantal plantensoorten der groep. Algen veroorzaken opzwellingen, aan Lichenen (als »cephalodien« beschreven in systematische werken. Bot. Jahresbericht II, 1874, p. 121), Fungi aan enkele Algen uit de familie der Florideën en aan andere Fungi, Raderdieren aan Algen. Dit weinige zij voldoende; — het is hier de plaats niet een opsomming te geven der bekende gevallen.

Wanneer men de vatbaarheid voor galvorming uitdrukt door het quotient van het aantal soorten eener groep, en de in die groep gevonden gallen, dan vindt men bij beschouwing van kleinere afdeelingen uit den typus der Phanerogamen, hetzelfde aanmerkelijke verschil terug in de grootte der verhoudingsgetallen, als waarop boven werd gewezen bij vergelijking der hoofdgroepen van het plantenrijk onderling.

Ofschoon het absolute getal der gallen van Monocotylen en Gymnospermen wel gering is, blijkt het toch bij vergelijking der vatbaarheid van die twee klassen voor galvorming, met die van de Dicotylen, dat de getallen weinig van elkander verschillen en de invloed van het geringe aantal soorten hier in 't spel is. Toch schijnen de Dicotylen werkelijk de meest vatbare bodem (zoo ten minste voor de duitsche flora). Maar veel duidelijker wordt het verschil bij vergelijking der familiën onderling. — In deze zaak aan bloot toeval te denken, is zeker niet rationeel, het snijdt den weg tot nader onderzoek af. Toch voelt men daartoe neiging, wanneer men het groot getal niet gallendragende individuen van soorten, die door gallen rijkdom uitmunten, vergelijkt met de weinigen die ze wel voortbrengen; of indien men de soorten onderling onderzoekt, en dan bespeurt hoezeer na verwanten kunnen afwijken.

Hoe dit echter nu zij, altijd voelt men zich gedrongen tot het zoeken naar een verband tusschen de eigenschappen van, hetzij dan familie, geslacht òf soort, met die van een ander, vreemd organisme. Is ook de opsporing van dit verband, waar het verschil der verhoudingsgetallen zoo duidelijk op heenwijst, gelijk aan het zoeken naar een ingewikkelde wisselverhouding, tusschen slechts ten deele bekende grootheden, vruchteloos à priori, is het zeker niet te noemen.

De eenvoudige biologische verhoudingen waaronder een soort leeft, staan vaak in een nauw verband met het aantal bewoners, de beschutting die zij in staat is aan te bieden, met den aard der bewoners. Zoo is het bijv. zeer waarschijnlijk, dat Phytoptus, dáárom bijna uitsluitend aan boomen, en slechts zelden aan kruidachtige planten voorkomt, omdat de knoppen en de schors der boomen, veel veiliger winter-verblijven zijn voor de teere bewoners of hunne eieren, dan jaarlijks afstervende kruiden, die kunnen aanbieden. Het voorkomen van de gallen die Phytoptus voortbrengt, is dus ook van deze omstandigheden afhandelijk.

Dat er verder een zekere afhankelijkheid bestaat tusschen gallenproductie en andere eigenschappen der soort of groep, zooals het meer of minder wêerstandbiedend vermogen tegen uitwendige schadelijke invloeden, de geographische en klimatische verspreiding, de morphologische eigenschappen in het algemeen, de vatbaarheid tot het vormen van teratologieën in het bijzonder, het aantal variëteiten als maat der veranderlijkheid, het totale getal der parasietische bewoners en dergelijke meer, is zeker. De buitengewone onnauwkeurige kennis van onze omgeving, en de volslagen onbekendheid met het geen buiten europeesche landen hier zouden kunnen leeren, maken echter dergelijke beschouwingen ontijdig, zoodat ik daarvoor geen plaats in dit tijdschrift, geen geduld van den lezer wil vergen, en ook de bovengenoemde verhoudingsgetallen terughoud.

Bij mijn onderzoek ben ik uitgegaan van de familie en heb een lijst vervaardigd, van de daarin beschreven misvormingen, voor zoover mij de literatuur toegangelijk was. Een dergelijke bloote opsomming, — en om bovengenoemde reden geef ik ze voor niets meer dan dat —, zij het volgende over waarnemingen aan Cruciferen.

Van plantaardige organismen, zijn het 4 fungi die bijzondere weefsel hypertrophieën teweegbrengen. Zij zijn:

1. Synchitrium aureum. (J. Schröter, in Cohn's Beiträge zur Bio-

logie der Pflanzen, Heft I, 1870, p. 1). Deze veroorzaakt kleine half bolvormige woekeringen aan de onderzijde der bladen van Cardamine pratensis, door celdeelingen die plaats hebben in de epidermis en 2 of 3 subepidermale cellagen.

2. Peronospora parasitica *Pers.* Deze veroorzaakt aan vele Cruciferen een eigenaardige ziekte die zich in de eerste plaats uit door verdikking der stengeldeelen. Aan Brassica oleracea wordt deze fungus in Engeland soms schadeveroorzakend waargenomen. Ook Brassica napus, Camelina sativa, Capsella bursa pastoris, en Cardamine amara worden vaak, eenige andere cruciferen zeldzamer aangetast, met ongeveer hetzelfde gevolg.

3. Cystopus candidus *Pers.* Komt ook op vele Cruciferen voor. Ik nam zeer vele planten van Diplotaxis tenuifolia waar, die in de inflorescentie door Cystopus werden bewoond. De bloemen waren tot monsterbloemen aangegroeid; de zeer groote kroonbladeren en meeldraden door bladgroen gekleurd, het vruchtbeginsel sterk gezwollen maar de verhouding in stand en getal, niet gewijzigd.

4. Eindelijk worden de wortels der koolplanten, knollen en rapen, en naar het schijnt nog van andere Cruciferen zooals Iberis umbellata, door een Plasmodium aangetast dat verwantschap bezit tot de Myxomyceten en Chytridiaceen (Woronin) [1]). Daar de ziekteverschijnsels door deze fungus opgeroepen, ook in ons land van tijd tot tijd algemeen schijnen op te treden, en gewoonlijk verward worden met de gallen, die snuitkevers uit het geslacht Ceutorhynchus veroorzaken, zoo wil ik hier iets uitvoeriger zijn.

De ziekte die ik thans bedoel is vooral in Engeland en Schotland op de knollenvelden zeer algemeen, en veroorzaakt daar aanmerkelijke schade; ook in België, Duitschland, Rusland en Nederland wordt zij waargenomen. In Rusland echter, breidt zij zich volgens Woronin eerst sedert 8 jaren — o. a. rondom Petersburg — meer algemeen uit. Volgens Marsham, zijn op de engelsche turnipsvelden, de zieke planten dadelijk herkenbaar aan de »tops that become yellow and flag in the sun« (J. Curtis, Farminsects, London and Edimburg 1860, pag. 135). De koolplanten waaraan ik de gallen aantrof hadden den hartknop verloren, en droegen op hoofd- en bijwortels vele schoone adventief knoppen, overigens waren de bladen gezond. De ziekte bestaat wat de uitwendige symptomen betreft, in een merkwaardige verandering der dunne bijwortels. Deze zijn door een éénzijdige woekering van langwerpige of halfbolvormige gedaante plaatselijk zeer sterk verdikt. De randen der woekering omvatten ten laatste de gezonde zijde van den wortel, die dan als het ware wordt ingehuld in het gezwel; daardoor ontstaan afgeronde of spilvormige lichamen, die soms zoo groot worden als ganzeëieren. — Zijn deze gezwellen nu juist aan den oorsprong der bijwortels geplaatst, en komen zij aan knollen of rapen voor, dan is het niet vreemd dat de landbouwers meenen, dat deze abnormaal vertakt zijn. De overeenstemming die zulke knollen met een hand vertoonen gaf aanleiding tot den naam »fingers and toes« die het engelsche landvolk aan de ziekte geeft. Gewoonlijk treden de hypertrophieën ergens op in het verloop der bijwortels, waardoor zij met dunne stelen — het gezonde beginstuk

---

[1]) Ook aan de wortels van Sinapis arvensis vond ik deze Plasmodium-gal, in den schooltuin te Wageningen.

der wortels — aan de knollen of paalwortels vastzitten. Van dezen aard waren de misvormingen aan Brassica oleracea, die ik in de Betuwe verzamelde, en aan de leden der Vereeniging ter bezichtiging gaf. — Vaak doet deze (?) ziekte zich onder meer goedaardigen vorm voor, n. l. als kleine onregelmatige gezwelletjes met platte vlakken, staande op dikkere bijwortels. Curtis meent daarin eene andere ziekte te moeten herkennen, hetgeen niet onwaarschijnlijk is.

Tegen den tijd dat de gallen rijp zijn, ontstaat er in de grooteren, een inwendige hoekige holte, door weefsel uiteenwijking, tengevolge van snellere celdeeling in de peripherie, dan in het midden; — een verschijnsel dat aan vele cultuurvariëteiten wordt waargenomen, bijv. aan reusachtige aardbeziën, radijzen of knollen enz.

De ziekte wordt zooals ik boven reeds zeide gewoonlijk aan verkeerde oorzaken toegeschreven, omdat zij verward wordt met ware insectengallen aan Brassica. Zoo houdt Ch. M'Intosh (The book of the garden, London & Edimb. 1855, T. II, p. 114, p. 198) de in Engeland »anbury« genoemde ziekte, die door den kever Ceutorhynchus pleurostigma *Marsh* (= Ceutorhynchus sulcicollis *Gyll.*) ontstaat, voor daarmede identiek.

Woronin, de ontdekker van de ware oorzaak der ziekte, denkt dat deze snuitkevers geen gallen kunnen vormen, maar eenvoudig als inquilinen der fungus-hypertrophie voorkomen (Bot. Zeitung 1875, p. 337). De meest verspreide dwaling echter is, dat de gallen ontstaan door vliege-larven uit 't geslacht Ocyptera. Als eigenlijke dader wordt dan bepaaldelijk Ocyptera brassicaria *Fabr.* genoemd. In deze meening verkeerde Ch. Morren, die een goede teekening der ziekte, en van de bedoelde vliege-larven gaf. (Clusia, Recueil d'observations de Tératologie végétale. (Op: post. Ed. Morren ed.) Liège 1852—74, pag 1). Evenzoo P. Soraur (Handbuch der Pflanzenkrankheiten, Berlin 1874, pag. 167).

De genoemde vlieg leeft met nog 10 andere soorten van hetzelfde geslacht, en eenige andere insecten, in larftoestand in de bedoelde gallen, wanneer deze in ontbinding overgaan. (Nowicki, Curtis.)

De eigenlijke oorzaak der ziekte werd reeds door Ch. Morren gezien, zelfs afgeteekend (l. c. pag. 6 fig. 5), maar niet begrepen.

Morren zag n. l. »dans les cellules malades, — une production énorme de globules gris ou brûnatres«, — maar voegt er naïef bij: »Qu'est ce que cette production? La chimie ferait chose *utile* de s'en occuper.« Gelukkig deed de chemie 't niet, zij heeft een anderen taak, maar een botanist M. Woronin bracht de zaak tot meerder klaarheid, ten minsten ten deele. — Ofschoon Woronin's mededeeling voorloopig, de fungus zelve nog niet benoemd is, zoo is het toch duidelijk dat Morren's »globules gris ou brunâtres«, »das aus einem farblosen zähen, undurchsichtigen und feinkörnigen Plasma bestehende Plasmodium«, van Woronin zijn. — Dit plasmodium neemt aanvankelijk een deel der cel in beslag, later het geheele lumen, en valt eindelijk uiteen in een zeer groot getal, eerst bij 700 of 1000 malige vergrooting duidelijk zichtbare, ronde sporen wier nadere levensloop nog niet bekend is. Elke spore bestaat uit een doorschijnenden wand met troebelen inhoud; alle samen liggen binnen een gemeenschappelijk vliesje dat den rand der parenchymcellen inwendig nauwkeurig bekleedt. — De sporen komen vrij door een walgelijk proces van verrotting. — Woronin entte met gunstigen uitslag deze sporen op gezonde koolwortels, en kreeg daardoor nieuwe gezwellen.

Stephens (Rural economy of Norfolk T. II p. 35) neemt aan dat de ziekte ontstaat door uitputting van den grond door, langdurigen bouw van hetzelfde gewas. Is deze meening ook onjuist, toch is het waar, dat de uitstorting der sporen in den grond, waar zij ongetwijfeld overwinteren, jaarlijks den kans tot uitbreiding der ziekte doet vermeerderen, zoodat aanhoudende bouw van het zelfde gewas, is af te raden. — Volgens Meyen treedt de dood der planten in, omdat deze gallen — die Meyen aan insektesteek toeschrijft — de vorming van bijwortels zouden verhinderen, en daardoor de plant gebrek aan voedsel zou krijgen (Meyen, Pflanzenpathologie, Berlin 1841, p. 68).

Wat betreft den aard van het indringen der sporen in de gezonde wortels, is nog niets bekend, alleen dit is uit den bouw der gallen dadelijk te besluiten, dat de drie weefselsystemen van den wortel, alle worden aangetast: — De vaatbundels in de gallen zijn dan ook duidelijk zichtbaar en onregelmatig netvormig verspreid; vooral het merg en de schors leveren de meeste stof voor de gal.

Thans liggen de Arthropodengallen aan de beurt.

Onder de Hemiptera wordt alleen aan het schuimbeestje Aphrophora spumaria *L.*, een stengel aanzwelling van Cardamine pratensis toegeschreven. Aan andere planten levende veroorzaakt dit insect niet zoodanige verandering.

Van de 4 vliege-gallen der Cruciferen is de veelkamerige langwerpige stengelgal eener onbestemde boorvlieg (Agromyza) twijfelachtig. De andere zijn: 1. Van Cecidomyia cardaminis *Win.*, die in de inflorescentie van Cardamine pratensis leeft en deze misvormt door éénzijdige woekering en stengelverkorting. — 2. Van Cecid. sisymbrii *Schrk.*, die in de bloemknoppen leeft van Nasturtium sylvestre en N. officinale, daarin de meeldraden en vruchtbeginsels tot woekering brengt, en de knoppen doet zwellen. — 3. Van Cecid. brassicae *Win.*; de larve leeft in groot getal in de hauwen van Brassica napus die daardoor eenigszins opzwellen. — Belangrijker dan deze zijn de kevergallen, die zoo uiterst algemeen aan verschillende planten dezer familie gevonden worden. — 1. De ziekte aan knollen, die in Engeland »anbury« of »clubbing root« wordt genoemd, kenmerkt zich door half bolvormige of onderling versmeltende gezwellen aan den wortelhals. In het midden der gal zit aanvankelijk in een volkomen ronde holte de kleine larve, die later de zelfstandigheid der gal afknagende daarin een onregelmatige hoekige kamer vormt. Deze gallen komen ook voor aan Brassica napus, en geven bij opkweking de bovengenoemde kever Ceutorhynchus pleurostigma *Marsh.* — 2. Veel op de vorige gal gelijken de woekeringen van Baridius lepidii *Germ.*, die op koolstronken en koolrapen algemeen voorkomen. Dat deze gal echter werkelijk tot eene andere type behoort dan 1, bleek mij uit het verloop der vaatbundels. 3. Gymnetron alyssi *Haimh.*, veroorzaakt langwerpige gezwellen aan de stengels van Farsetia incana. 4. Ceutorhynchus contractus *Marsh.*, leeft in, op de vorige gelijkende gallen, van Thlapsi perfoliatum, en van Sinapis arvensis (*Kirby & Spence*). 5. Ceutorhynchus drabae *Laboulb.*, is aanleiding van een stengelopzwelling juist boven de bladrozet van Draba verna; gewoonlijk ontwikkelen zich de stengels normaal, somtijds blijven zij rudimentair, en dan zitten de bloemen, onmiddellijk op een bolvormig lichaampje van witte kleur. Andere entomologen

hebben hetzelfde insekt later opgekweekt uit gallen aan de wortels van Farsetia incana en stengelgallen van Thlapsi arvensis; aan de juistheid dezer opgave twijfel ik echter, — het opkweken dier kleine snuitkevers is moeilijk. (Voor de Drabagal zie: Laboulbène, Annales de la société entomologique de France. Paris 1856. T. IV. p. 145, Tab. IV.) — Van de ± 40 middeneuropeesche kevergallen, komen er dus minstens 5 aan Cruciferen voor. — Enkele dezer gallen zijn reeds sedert lang bekend. Malpighi (Opera omnea. Lugd Bat. 1687, p. 127) geeft een goed herkenbare afbeelding van de koolstengelgal, en is over de oorzaak in het klare. Hij nam reeds waar, dat de larve door een opening de gal verlaat, om in den grond van gedaante te wisselen. C. E. Hammerschmidt, onderzocht de gallen van Sinapis arvensis, — die hij toeschrijft aan Cleopus affinis — nauwkeurig, en herkende daarin de vaatbundels, die hij afbeeldt (Observationes physiologico pathologicae de plantarum gallarum ortu insectiscisque excressentiae proferentibus. Vindobonae 1832, Tab. VI.)

Eerst later ontstond de verwarring waarop ik boven wees: herhaaldelijk werden de gallen beschreven, zonder dat er nieuwe waarnemingen daaromtrent werden gedaan; en de verwisseling der soorten, is zelfs nu nog niet geheel opgehelderd. — Omtrent het eerste ontstaan, deelt Spence aan Curtis (l. c. p. 133) mede, dat de vrouwelijke snuitkever met de mondwerktuigen eene opening boort in den schors der plant en in deze wond het ei legt; maar hij laat het in 't midden, òf dat het volkomen insekt daarbij een vochtdroppel uitstort in de wond, òf dat de galwoekering ontstaat door »an acid secretion« van de larve.

De waarheid schijnt 't te zijn, dat de larve zich. dadelijk na het uitkomen uit 't ei naar binnen boort, en zelve de oorzaak wordt der woekering.

Omtrent de middelen, die tot wering der twee ziekten, »anbury« en »fingers and toes« zijn voorgeslagen, verwijs ik naar Curtis (l. c. p. 145).

Eindelijk blijft mij nog over melding te maken van een echte vergroening, die door het geslacht Phytoptus (behoorende tot de plantmijten) aan Farsetia incana en Lepidium Draba wordt veroorzaakt (Amerling, Prager Lotos 1869). Deze misvorming, die nog aan een tiental andere planten (en waarschijnlijk komt zij aan veel meerderen voor), is waargenomen en beschreven, wordt gewoonlijk onder de teratologica gerangschikt (zoo bijv. bij Moquin Tandon, Pflanzenteratologie; duitsch van Schauer, Berlin 1842, pag. 362), komt vooral aan Umbelliferen in de bloeiwijze voor, waar Linnaeus ze reeds in kende, — en kenmerkt zich door rijke vertakking der assen, geheel onafhankelijk von bladen of knoppen.

Elders zal ik de mij bekende gevallen samenstellen.

Beobachtungen und Betrachtungen über Wurzelknospen und Nebenwurzeln.

Natuurkundige Verhandelingen der Koninklijke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam, Deel XXV, 1886.

EINLEITUNG.

Da die Knospen- und Wurzelbildung bei den höheren Pflanzen eine Function der Embryonen, der Vegetationspunkte und der Meristeme überhaupt sein kann, so muss man schliessen, dass die dabei thätigen Kräfte von der nämlichen Natur sind wie diejenigen, unter deren Einfluss jedes andere Organ bei der ontogenetischen Entwicklung entsteht. Manche Gefässcryptogamen, man denke z. B. an *Botrychium, Selaginella, Lycopodium,* zeigen die Richtigkeit dieses Schlusses, denn bei diesen Pflanzen ist der ganze Entwicklungskreis oft mit grosser Strenge normirt; jeder Zweig und jede Wurzel besitzt eine ebenso genau bestimmte Stelle am Stock wie die Blätter und die Sporangien, deren Entstehung durch feste morphologische Regeln beherrscht wird, welche nur bei den teratologischen Vorkommnissen gewisse Ausnahmen zulassen.

Dem gegenüber können in anderen Fällen neue Knospen und Wurzeln gänzlich unabhängig vom normalen Entwicklungsgesetze an ausserordentlich verschiedenen Stellen des Pflanzenkörpers plötzlich auftreten, wobei selbst vollständig erwachsene und hoch differenzirte Gewebe zur Sprossbildung Veranlassung geben können, wie z. B. die weit verbreiteten Callusknospen und die Begonienblätter beweisen [1]).

Die Natur scheint demnach die einzelnen Factoren der Kräftesumme, welche die Ontogenie beherrscht, und welche durchgehends derweise unzertrennlich zusammenhängt, dass die Organe in einer gesetzmässigen, räumlichen und zeitlichen Anordnung entstehen, aussondern und an weit von den eigentlichen Entwicklungsheerden entfernten Stellen vereinzelt in Thätigkeit setzen zu können. Daher der Name Adventivbildungen, welchen man gewöhnlich dem Product solcher Thätigkeit beilegt; das Studium derselben verspricht auf Grund der obigen Betrachtung offenbar einigen Aufschluss über die Natur der bewirkenden Kräfte der ontogenetischen Vorgänge.

Die einmal vorhandenen Knospen- und Wurzelanlagen können sich auf vielerlei verschiedene Weisen verhalten. Wenn dieselben nach Art der übrigen Körpertheile

---

[1]) Aus meiner Beschreibung der Einzelfälle der Sprossbildung auf Wurzeln wird man sehen, dass die Wurzelknospen gewöhnlich, allein nicht immer, bestimmten Symmetriegesetzen gehorchen.

in den Vegetationspunkten angelegt worden sind, so können sie sich entweder unmittelbar entfalten, oder sie treten vorher einen Ruhezustand an und werden dann in Folge der Ausdehnung der fortwachsenden Theile ihrer Nachbarschaft nicht selten an weit von den Entstehungsorten entfernten Körperstellen hingelegt. Sind es vollständig erwachsene Gewebe, welche aufs Neue in bildende Thätigkeit versetzt werden, so können ganz ähnliche Differenzen in Bezug auf die Entfaltung der neu entstandenen Knospen oder Wurzeln obwalten. Dadurch wird es oft sehr schwer, zu entscheiden, ob in einem bestimmten Falle die erste oder die zweite der beiden Entstehungsweisen vorliegt. Allein in physiologischer Beziehung erscheint diese Entscheidung nicht als besonders wichtig, denn manche Gründe sprechen für die Annahme, dass bei Knospen und Wurzeln die nämlichen Ursachen, welche ihre erste Entstehung veranlassten, auch bei ihrem späteren Austreiben aus einer ruhenden Anlage im Spiele sind, was besonders durch Vöchting hervorgehoben worden ist.

Dass diese letztere Voraussetzung wirklich berechtigt ist, scheint mir besonders aus der Thatsache hervorzugehen, dass es in gewissen Fällen möglich ist, eine morphologisch schon deutlich bestimmte Organanlage zu einem Organe einer anderen morphologischen Natur auswachsen zu lassen, dadurch, dass man die Factoren, welche für die Entwicklung der ursprünglichen Anlage günstig sein würden, in solche umwandelt, welche die Entstehung des neu zu erzielenden Organes fördern oder veranlassen würden. So habe ich gefunden, dass die Stecklinge von *Selaginella Martensii, S. Galeottiana* und *S. denticulata* neue Pflanzen hervorbringen dadurch, dass oberhalb des Bodens eine ruhende Anlage eines Wurzelträgers sich in einen Blattspross umwandelt, während die unterhalb des Bodens befindlichen Wurzelträgeranlagen zu normalen Wurzeln auswachsen. An den Wurzeln von *Rumex Acetosella* fand ich noch merkwürdigere Verhältnisse; dabei gelingt es nämlich, nicht nur Wurzelanlagen zu Sprossen auswachsen zu lassen, sondern selbst junge Sprossanlagen, welche ihrerseits ursprünglich auf rhizogene Zellen zurück zu führen sind, nachträglich in Wurzeln umzuwandeln. In dieser Weise gelang es mir, die Existenz aufzudecken von Wurzeln, welche an ihrer Basis ein oder zwei Scheidenblätter trugen. »Beblätterte Wurzeln« sind in der Pflanzenmorphologie gewiss etwas Neues.

Es ist klar, dass in diesem und ähnlichen Fällen, in Folge des Eingriffes gewisser äusserer Veränderungen, innere Kräfte ausgelöst werden, welche an und für sich oder in Verbindung mit anderen Kräften für die Entstehung morphologisch bestimmter Organe maassgebend sind. Die Art und Weise, wie diese Kräfte dabei arbeiten, ist gewiss auf dem Gebiete der Reize zu Hause und viele Gründe sprechen für die Annahme, dass die ganze Ontogenie auf Nahrungsreizen beruht.

Darwin hat in seiner Hypothese der Pangenesis [1]) das allgemeine Prinzip begründet, dass bei der Ontogenie die Entfaltung einer bestimmten Molecülgruppe der lebenden Substanz, — eines »Keimchens«, wie er sich ausdrückt — als nothwendige Folge die Entfaltung einer anderen genau bestimmten Molecülgruppe nach sich zieht. Irgendwo, z. B. bei der Samenkeimung, muss der Process aber anfangen unter dem Einfluss von äusseren Reizen, und in Bezug auf ihre nächste Umgebung kann man

[1]) Es lässt sich zeigen, dass Darwin's Pangenesis, in modifizirter Form, — nämlich unter Zugrundelegung der Protoplasmatheorie und der Annahme ruhender »Keimchen«, — eine logische Consequenz der Variabilitätslehre ist.

auch von den Adventivbildungen sagen, dass ihre Entstehung und Entfaltung unter dem Einfluss solcher äusserer — in diesem Falle aber aus dem Innern der Pflanze herkünftiger — Kräfte steht. Im Grunde genommen ist die Ansicht der besten Pflanzenphysiologen, welche über diese Sache geschrieben haben, mit der vorgetragenen Betrachtung stets in Uebereinstimmung gewesen, denn sowohl Duhamel, Knight und de Candolle, wie Mohl und Sachs haben mit grosser Bestimmheit die Ueberzeugung ausgesprochen, dass die Neubildung von Knospen und Wurzeln eine directe Folge gewisser Veränderungen in den Saftströmungen sein kann, mit anderen Worten, dass diese Organe in Folge der Erregung durch Nahrungsreize des Protoplasma's der Muttergewebe entstehen.

Dass die Entstehung der Sexualsprosse an den Fruchtgehölzen — und wohl in allen anderen Fällen ebenso — durch die Saftströmungen regulirt wird, ist die Grundlage des rationellen Schneidens, und wie ausserordentlich gross der Einfluss dieses Vorgehens auf die ganze Oeconomie der Pflanze ist, lehren die Formbäume. Für den Botaniker ist die Hauptachse eines solchen Formbaumes ein Sympodium. Vergleicht man damit die *natürlichen* Sympodien der zweizeilig beblätterten Bäume, welche ihre Endknospe abwerfen wie *Corylus Avellana,* oder rudimentär verbleiben lassen wie *Tilia* und *Ulmus,* und ferner die Fächel, Sickel, Wickel, Schraubel und die übrigen dichasialen Blüthenstände mit Endblüthen, so bekommt man den Eindruck, dass der Gärtner in seinen Spalier- und Pyramidbäumen durch das nämliche Mittel die Distribution und Entwicklung der Sexualsprosse regulirt, wie die Natur in unzähligen Fällen, nämlich durch Sympodienbildung. Den Einfluss des sympodialen Baues auf die Saftströmung im Einzelnen nachzuweisen ist schwierig, dass ein solcher Einfluss besteht, ist unzweifelhaft.

Nachdem ich die so eigenthümlichen Verhältnisse der Wurzelknospen kennen gelernt habe, fühle ich mich durchaus nicht veranlasst, die oben ausgesprochene Ansicht aufzugeben, und ich erlaube mir das Resultat, wozu ich früher in Folge der Untersuchung der Knospen- und Wurzelbildung aus Blättern gekommen bin, hier noch einmal nieder zu schreiben. So wohl an Blättern wie an Stengeln und Wurzeln lässt sich in einer grossen Anzahl von Fällen ein deutlicher Zusammenhang nachweisen zwischen der Stellung des Xylems und der Stellung der Knospen, nämlich in dem Sinne, dass die Knospen sich dort bilden und befinden, wo die Wirkung der aufsteigenden Strömung, welche Wasser und Salze anführt und besonders im Xylem stattfindet, sich auf eine eigenthümliche Weise auf das benachbarte Gewebe äussern muss, wie z. B. an unversehrten Stengelspitzen, an den Spitzen von Stengel- und Wurzelstücken, in Blattachseln, in den Eckpunkten der Nervenverzweigungen der Blattspreiten und in den Ansatzstellen der Seitenwurzeln, — alle erfahrungsgemäss für die Knospenbildung besonders geeignete Stellen. Da die Stengelorgane der höheren Pflanzen besonders der Bäume sich ähnlich wie die Wurzeln durch Druckkräfte auszeichnen, welche das Wasser leichter von unten nach oben wie von oben nach unten fortbewegen, muss sich in einem abgeschnittenen Stengel- oder Wurzelstück ein Gegensatz in Bezug auf die Wirkung des Wasserstromes in Basis und Spitze vorfinden, welcher als Reiz oder als Reizursache fungiren kann, und darauf mag die besondere Disposition zur Knospenbildung beruhen, welche in den Geweben, wo der Wasserstrom sich hinbewegt, wachgerufen wird. Herrn Wakker gelang es zu zeigen, dass man durch das Anbringen künstlicher Veränderungen im Wasserstrom,

die Entfaltung der Blattknospen von *Bryophyllum calycinum* willkürlich hervorrufen kann.

In Bezug auf die Wurzeln ergibt sich, dass diese, gleichgültig, ob sie an anderen Wurzeln, an Stengeln oder an Blättern entstehen, sich beinahe immer endogen[1]) entwickeln und zwar aus den Organen mit primärer Structur — Wurzeln, Stengeln, Blättern — aus dem Pericambium des Centralcylinders sammt oder ohne Mithülfe der nächst benachbarten Schicht der primären Rinde; in secundären Geweben dagegen aus den äusseren Cambiform- und Phloëmschichten und dem nächst daran grenzenden parenchymatischen Gewebe; also in jedem Falle in der unmittelbaren Nähe des Weges, welcher von dem niedersteigenden Saftstrom, der die plastischen Nahrungsstoffe, wie Kohlenhydrate und Eiweiss distribuirt, verfolgt wird. Da in Folge dieser Strömung in abgeschnittenen Stengelstücken an der Basis und an abgeschnittenen Blättern unten am Blattstiel eine starke Anhäufung der Nahrungsstoffe zu Stande kommt, und es eben diese Stellen sind, welche sich für die Wurzelbildung besonders eignen, darf man schliessen, dass die Wurzelentwicklung erregt wird durch einen in das zur Wurzelbildung geeignete Gewebe sich ergiessenden Nahrungsstrom.

Ein solcher Strom kann wohl nichts anderes wie ein mit Nährstoffen beladenes, seine Last von Zelle zu Zelle übertragendes Protoplasma sein[2]), und bekanntlich hat Hugo de Vries den Beweis geliefert, dass das rotirende Protoplasma wirklich als Träger und Beweger der Nährstoffe aufgefasst werden kann.

Dass eine solche Regulirung der Knospen- und Wurzelentwicklung, wie die hier ausgesprochene, eine für die Pflanzen durchaus nützliche ist, ist deutlich. Die Knospen müssen nämlich einen grünen Zweig erzeugen, für deren Hauptfunctionen, die Kohlensäurezerlegung und die Transpiration, eine gesicherte Verbindung mit dem Wasserleitungssystem der Pflanze nothwendig ist. Würde sich nun eine bessere Einrichtung denken lassen als eine solche, bei welcher ein bestimmter Einfluss dieses Wasserstromes selbst die Entstehung neuer Knospen beherrscht? Die Wurzeln dagegen, welche in Bezug auf die grünen Theile gewissermaassen als farblose Parasiten betrachtet werden können, müssen vor Allem so gestellt sein, dass sie leicht aus dem Strome der plastischen Nährstoffe schöpfen können. Auch hier scheint es deshalb eine nützliche Einrichtung, dass diese Strömung selbst die Entstehung und Entfaltung der Wurzelanlagen regulirt. —

In Bezug auf die Stellung der Wurzelknospen an ihren Tragwurzeln habe ich mehrere scharf verschiedene Fälle aufgefunden, welche man unten beschrieben und am Ende von Kapitel VII übersichtlich zusammengestellt finden wird. Bei aller Veränderlichkeit in dieser Beziehung gelang es mir doch, eine Hauptregel zu finden, welche in den verschiedensten Familien zurückkehrt und als der Ausdruck der eigentlichen typischen Stellung der Wurzelknospen betrachtet werden muss. Diese Regel besteht darin, dass die Wurzelknospen in der unmittelbaren Nachbarschaft oder auf der Basis von den Seitenwurzeln vorkommen. Seitenwurzel und zugehörige

[1]) Exogene Adventivwurzeln an Stengelorganen findet man bekanntlich bei *Neottia Nidusavis*, ferner, wie ich gefunden habe, bei vielen Cruciferen und bei den Orobanchen. Auch die Wurzelträger der Selaginellen sind hierher zu rechnen. Die beinahe exogenen Wurzeln vieler Crassulaceenstengel entstehen eigentlich aus den Seitenknospenmeristemen.

[2]) Das Protoplasma selbst verlässt seine Zelle bekanntlich niemals.

Knospen lassen sich demzufolge mit einem gewissen Rechte vergleichen mit Embryonen, — wir werden aber sehen, dass dieser Vergleich von keiner physiologischen Bedeutung ist. Dass die genannte Stellung für die Knospen und desshalb für die ganze Pflanze eine nützliche ist, lässt sich nicht bezweifeln.

So weit mir thunlich war, bin ich bei meiner Untersuchung der Wurzelknospen bis auf die Keimpflanzen zurückgegangen, was in manchen Fällen mit Schwierigkeit verbunden ist wegen der oft vorkommenden, ziemlich grossen oder selbst vollständigen Sterilität der Pflanzen, welche diese Knospen erzeugen.

Die Entwicklungsgeschichte der Wurzelknospen lässt sich nur sehr schwierig direkt beobachten, in den allermeisten Fällen lässt sich aber aus einer genauen Betrachtung der anatomischen Verhältnisse, selbst erwachsener Zustände, eine vollständige Aufklärung in dieser Beziehung erreichen, was man aus vielen meiner Figuren, wie ich glaube, sofort sehen wird. —

Durch meine Beobachtungen über die Wurzelknospen wurde ich von selbst auf das Studium des umgekehrten Verhaltens, nämlich der Wurzelbildung aus Stengelorganen, geführt. So lange man nur wenige Beispiele in dieser Beziehung kennt, hat es den Anschein, als ob die Stellung dabei im Allgemeinen regellos ist. Je mehr man sich aber mit der Sache vertraut macht, desto mehr sieht man, dass in dieser Beziehung erstens eine gewisse Beeinflussung von den Blättern ausgeht, und dass zweitens eine ähnliche Regel obwaltet wie diejenige betreffs der Knospenanordnung in Bezug auf die Seitenwurzelinsertionsstellen, nämlich eine Bevorzugung der Wurzelbildung in der Nähe der Seitenknospen. Betrachten wir zuerst das Verhältniss zwischen den Blättern und den Wurzeln etwas näher.

In vielen Fällen ist nicht daran zu zweifeln, dass die Blätter einen begünstigenden Einfluss auf die Entstehung der Wurzeln ausüben. Besonders deutlich ist dieses in denjenigen Fällen, wo die Blätter, als Stecklinge benutzt, aus ihren Stielen Wurzeln erzeugen, denn in diesem Falle können keine anderen Einflüsse bei der Wurzelbildung im Spiele sein als solche, welche nur durch die Blätter selbst bestimmt werden. Die Gärtner wissen, dass einer ganzen Menge von Blättern dieses Vermögen innewohnt. Am meisten bekannt sind in dieser Beziehung die Blätter, welche bei Stecklingsversuchen im Stande sind, Knospen zu erzeugen, wie diejenigen von gewissen Droseraceen, Crassulaceen, Begoniaceen und Gesneriaceen. Allein auch eine ganze Reihe von Blättern, von welchen man nicht annehmen kann, dass sie jemals Knospen tragen oder getragen haben, sind mit Wurzeln beobachtet, — ich erinnere hier z. B. an die Blätter von Hopfen, Bohnen, gewissen Kohlarten, der Balsaminen, der Melastomaceen und vieler anderen Pflanzen.

Gewöhnlich brechen die Wurzeln in solchen Fällen aus den Wundflächen hervor und die anatomische Untersuchung ergibt, dass dieselben mit der Aussenseite des Centralcylinders zusammenhängen, aus dem Pericambium entstehen und die Endodermis und die Rinde durchbohren müssen, um nach aussen zu kommen.

Es sind jedoch durchaus nicht allein die Wundflächen, aus welchen die Blätter Wurzeln erzeugen; manchmal sieht man dieselben über die ganze Rückenfläche des Blattstieles zerstreut, und ich fand an einer feuchten Stelle auf einer Haide eine ganze Menge zu Boden liegende Blätter von *Galium saxatile*, welche alle aus der Mitte ihrer Rückennerven eine Wurzel getrieben hatten, womit sie am Boden befestigt waren.

In allen diesen Fällen ist es die Entfernung von der Mutterpflanze, welche offenbar einen begünstigenden Einfluss für die Wurzelbildung darstellt, und es ist wohl nicht zweifelhaft, dass es Nahrungsreize sind, welche dadurch ausgelöst werden und als primäre Ursache der Erscheinung betrachtet werden müssen. Stets ist es die plastische Nahrung, welche an denjenigen Stellen, wo sie sich anhäuft oder hinbewegt, eben durch die Accumulation oder Bewegung das Signal zur Neubildung der Wurzeln angibt.

Wie verhält sich nun aber die Sache bei den noch mit der Mutterpflanze verbundenen Blättern? Lässt sich dabei ein Zusammenhang zwischen deren Stellung und den Entstehungsörtern der Nebenwurzeln nachweisen? Für die fascial entstehenden Nebenwurzeln ist es natürlich nicht zweifelhaft, dass ein solcher Zusammenhang wirklich existiert, denn der Gefässbündelverlauf wird in erster Linie durch die Blattstellung geregelt [1]). Für die interfascialen Nebenwurzeln, welche die allgemeineren sind, lässt sich ein solcher direkter Zusammenhang nicht nachweisen; sie treten, wie es scheint, ordnungslos aus der Oberfläche des Centralcylinders hervor, und dabei sicher nicht abhängig von der Gefässbündelanordnung in demselben, also auch nicht, oder wenigstens nicht direkt, von der Blattstellung.

Die so ausserordentlich allgemeine nodale Stellung der Nebenwurzeln wird nach meiner Ansicht, wenigstens der Hauptsache nach, durch die Nachbarschaft der Seitenknospen beherrscht und nicht durch diejenige der Blätter.

Nach alle diesem scheint es mir nicht zweifelhaft, dass der Zusammenhang zwischen Blättern und Nebenwurzeln überall, wo derselbe vorkommt, einfach auf Nahrungsreizen beruht, derweise, dass die Phloëmbündel, welche den aus den Blättern kommenden plastischen Nahrungsstrom leiten, an denjenigen Stellen, wo sie am kräftigsten sind und mit von höher liegenden Blättern kommenden Bündeln verschmelzen, das unmittelbar benachbarte Gewebe (so wie gewisse ihrer eigenen Gewebezellen) besonders zur Wurzelbildung befähigen.

Ein solcher sofort sichtbarer Zusammenhang ist aber durchaus keine ausnahmslose Regel, andere Symmetrieverhältnisse sind in dieser Beziehung gewöhnlich viel wichtiger; der Nachweis derselben ist aber bisher nur in einzelnen Fällen gelungen. Ein unbekannter Einfluss, welcher von den Seitenknospen ausgeht, ist sicher eines davon. Die genaue Untersuchung zahlreicher Fälle führt nämlich zur Ueberzeugung, dass die Entstehung der Nebenwurzeln in naher Beziehung zur Seitenknospenbildung sein muss, derweise, dass die letztere die erste veranlasst oder fördert, und dass in Folge dessen die Nebenwurzeln sehr allgemein in der unmittelbaren Nachbarschaft der Knospen oder aus diesen selbst entspringen. Besonders interessant scheint es mir, dass die Rhizocarpeen die Equiseten und die Lycopodiaceen ohne Ausnahme diesen Zusammenhang aufzeigen: bei *Marsilia*, *Pilularia* und *Azolla* sitzen die Wurzeln neben und auf der Basis der Seitenzweige, bei *Lycopodium* und *Selaginella* an den Eckpunkten der Dichotomiestellen, bei *Equisetum* nur an der Basis rudimentärer oder wohlausgebildeter Seitenknospen. Für sehr viel Monocotylen bin ich zu einem ähnlichen Resultat gelangt, obschon die Sache sich dabei nicht in so

---

[1]) Bei der Entstehung von Seitenwurzeln aus anderen Wurzeln liegen offenbar ganz besondere Einrichtungen vor, zur Sicherung des regelmässigen Verlaufes dieses Processes.

wenigen Worten zusammenfassen lässt. Und so ist es ebenfalls für die Dicotylen. Bei wenigstens einundzwanzig, und wahrscheinlich noch viel mehr Familien dieser Klasse, ist der Zusammenhang zwischen Nebenwurzeln und Seitenknospen sofort einleuchtend durch deren relative Stellung, denn die Nebenwurzeln sitzen dabei: entweder an der Basis der Knospe selbst (Crassulaceen) — unmittelbar unterhalb und neben denselben in der Blattachsel (Rosaceen) — direkt oberhalb der Knospen (Cruciferen) — auf den Knoten der Knospen ganz nahe (Scrofulariaceen) — oder sie durchbohren die Blattbasis unterhalb der Knospe und scheinen aus dem Blatte zu entstehen *(Adoxa, Mühlenbeckia).* Hier will ich aber nicht in weitere Einzelheiten treten, welche sich nicht kurz beschreiben lassen, sondern mich darauf beschränken. die Namen der übrigen in Betracht kommenden Familien einfach anzuführen, es sind die folgenden: die Leguminosen, Ampelideen, Saxifragaceen, Oxalideen, Berberideen, Caryophyllaceen, Aristolochiaceen, Menispermaceen, Paronychiaceen, Portulacaceen, Cacteen, Asclepiadeen, Solaneen, Acanthaceen, Primulaceen, Campanulaceen, Lobeliaceen, Ericaceen (in weiterem Sinne). Aus einer grossen Zahl der hier nicht genannten Familien vermag ich wenigstens einzelne Beispiele für meine Regel anzuführen. Ich muss hierzu nun noch bemerken, dass man nicht bei jeder willkürlichen Art aus den genannten Familien (mit Ausnahme der Cruciferen, Crassulaceen und Ericaceen, für welche die Regel wahrscheinlich strenge Gültigkeit besitzt), den Zusammenhang zwischen Knospen und Nebenwurzeln beobachtet, allein es kann nicht befremden, dass eine so wichtige Function wie die Wurzelbildung, welche noch für so viele andere äussere und innere Factoren (Licht, Feuchtigkeit, Schwere, Nährstoffströmungen) ausserordentlich empfindlich ist, oft zu Stellungsverhältnissen Veranlassung gibt, wobei dann der eine, dann wieder ein anderer dieser Factoren den Durchschlag gegeben hat.

Auch darf nicht übersehen werden, dass es möglich scheint, dass Verwachsungen oder Verschiebungen zu scheinbaren Ausnahmen der Hauptregel veranlassen können. Wenn van Tieghem's Ansicht, dass die Ophrydeenknolle ein der Länge nach zuzusammengewachsenes Wurzelbündel ist, richtig ist, kann man an die Möglichkeit denken, dass Aehnliches in anderen Fällen vorkommt. Um ein Beispiel zu nennen, erinnere ich daran, dass *Galium Mollugo* (welche 8 Blätter auf jedem Knoten trägt, wovon 2 mit Achselknospen) rechts und links neben jeder Knospe, ein wenig unterhalb deren Insertionsstellen, aber oberhalb der Knotenanschwellung, eine Nebenwurzel erzeugen kann. Bei *Galium baldense* stehen dagegen nur zwei Nebenwurzeln mitten zwischen den opponirten Knospen und etwas höher inserirt wie diese. Könnte man sich hier nicht versucht fühlen, eine Wurzelverwachsung anzunehmen, um von der vierzeiligen Stellung von *Galium Mollugo* zu der zweizeiligen von *Galium baldense* zu kommen? Dass eine Blattverwachsung bei den Galien existirt, wird von allen Systematikern anerkannt. — In Bezug auf den möglichen Einfluss von Verschiebungen erinnere ich an die Equisetenknospen, welche gelehrt haben, wie vorsichtig man sein muss, um aus dem Orte des ersten Sichtbarwerdens eines Organes zu schliessen auf die Stelle, wo das Mutterorgan die erste Anlage der Neubildung vorbereitet hat.

Aus der für die Stellung der Wurzelknospen gefundenen oben erwähnten Hauptregel, geht, in Verbindung mit dem Schluss, wozu wir eben in Bezug auf die Nebenwurzelstellung gelangt sind, unzweideutig hervor, dass zwischen Wurzel- und Knospenbildung eine, gegenseitig fördernde Correlation existirt. Durch diese einfache Regel werden also

scheinbar sehr heterogene Eigenschaften der Pflanzen unter einen gemeinsamen Gesichtspunkt gebracht. — —

Es war anfangs mein Vornehmen, bei jedem zu besprechenden Specialfalle der Wurzelknospen eine ausführliche anatomische Beschreibung der dabei in Betracht kommenden Wurzeln voraus zu schicken, und das Material dazu war schon zusammengebracht und bearbeitet; diesen Plan habe ich aber aufgegeben, da die feineren anatomischen Details für die Hauptsache doch jedenfalls vorläufig als gleichgültig betrachtet werden müssen; kurze Hinweisungen auf die gröberen anatomischen Verhältnisse werden für meinen Zweck genügen.

Bei diesen anatomischen Untersuchungen war ich schon vor einigen Jahren zu der Ueberzeugung gelangt, dass nicht nur der Stengel der Monocotylen, was durch Falkenberg schon früher gezeigt und durch Mangin bestätigt war, sondern auch derjenige der Gefässcryptogamen und der Dicotylen, eben so wohl einen Centralcylinder besitzen wie die Wurzeln, und, dass dieses Organ selbst in den Blättern vorkommt und hier oft direct sichtbar ist; ich habe dieses im Jahre 1885 in meiner Beschreibung der Galle von *Cecidomyia Poae* an *Poa nemoralis* ausgesprochen.

Auch van Tieghem ist in der letzten Zeit zu diesem Schlusse gekommen und hat darauf, früher wie ich, nämlich in seinem *Traité de botanique* vom Jahre 1884, mit Nachdruck und voller Klarheit hingewiesen; auf seine Angaben bin ich aber erst aufmerksam geworden durch das Lesen der interessanten Abhandlung seines Schülers Morot, *Recherches sur le Péricycle,* worin die Allgemeinheit des Vorkommens der Endodermis und des mit dem Pericambium der Wurzel homologen Perizikels im Stengel und in vielen Blattstielen ausführlich nachgewiesen wird. Ich bin auf die Erwähnung dieser Einzelheiten eingetreten, weil ich die Entdeckung des Centralcylinders in allen Organen der Pflanze für einen sehr wichtigen Fortschritt der eigentlichen vergleichenden Pflanzenanatomie halte, welcher für die Systematik und Morphologie ausserordentlich viel verspricht. Das Maass der inneren Verwandtschaft zwischen Blättern, Stengeln und Wurzeln ergiebt sich, besser wie durch irgend eine andere Eigenschaft, aus dem Vergleich ihrer Centralcylinder, und die Structurverhältnisse der abnormen Dicotylenstengel, der Knollen und Rhizome, treten durch die neue Betrachtungsweise in ein helles Licht.

Bei meinen eigenen Beschreibungen werde ich das Wort Perizikel in dem von van Tieghem und Morot daran gegebenen Sinne oft gebrauchen; es kann aber auch in vielen Fällen mit voller Richtigkeit durch »Pericambium« ersetzt werden, und da ich diese Abhandlung sachlich schon ganz fertig hatte, lange bevor Morot's Arbeit erschienen war, fand ich nicht überall Anleitung, meine ursprüngliche Schreibweise Pericambium in Perizikel umzuändern.

Es darf bei dieser Betrachtung nicht vergessen werden, dass Hanstein in seiner sogenannten Plerom-Periblemtheorie eigentlich schon lange vor Falkenberg, van Tieghem und mir essentiell die Allgemeinheit des Vorkommens des Centralcylinders in den Stengeln ausgesprochen hat, und dass auch Famintzin in seinem Versuche, die Keimblätter des Thierreiches in den höheren Pflanzen, z. B. in den Blättern von den Papilionaceen nachzuweisen, offenbar von einem ähnlichen Gedankengange durchdrungen war. — —

Die Freiheit, welche ich bei der Entstehung der Wurzelknospen beobachtete, musste mich, wie so viele andere Forscher vor mir, veranlassen, die Frage zu stellen,

ob alle lebenden Zellen einer Pflanze betrachtet werden müssen, fähig zu sein, das Ganze zu reproduziren, und durch welche besonderen Eigenschaften das Protoplasma der *speziell* für die Reproduction bestimmten Gewebe und Zellen sich auszeichnet. Da ich aus meinen eigenen Beobachtungen gelernt habe, dass die Oberfläche der primären Rinde der Wurzeln von *Aristolochia Clematitis* und der secundären Rinde der Wurzeln von *Ailanthus glandulosa* an jedem Punkte Knospen zu erzeugen vermag, — da dieses ferner ebenfalls zutrifft für die Blätter und Stämme gewisser Begonien und für die Trichome der Rhizoide von *Psilotum triquetrum,* so glaube ich, dass die Reproductionsmöglichkeit für alle Punkte der Oberfläche der Pflanzen feststeht. Was nun ferner das Innere betrifft, habe ich gesehen, dass die dicken Stengel gewisser Kohlsorten, z. B. des Kuhkohls, durch Zerreissung eine Markhöhlung ausbilden, dass sich rings um diese aus dem Parenchym ein Cambiumcylinder differenziren kann [1]), welcher nach *aussen* secundäres Holz, nach *innen,* der Höhlung zugekehrt, secundäre Rinde mit Phloëmbündeln erzeugt und dass aus der Oberfläche der letzteren schöne, fusslange Wurzeln entstehen können, welche frei in der Markhöhlung hangen. Obschon ich nun in diesem Falle nicht direct Knospenbildung beobachtete, zweifle ich auf Grund der genannten Wahrnehmung nicht an der Möglichkeit dazu, und halte darum auch die Markzellen für befähigt, eine neue Pflanze zu erzeugen. Für das Innere der secundären und primären Rinde liegen die Verhältnisse noch viel offener da, und ich werde darauf wohl nicht weiter hinzuweisen brauchen; überdies wird man unten mehrere Beispiele beschrieben finden.

Die Berechtigung zur Annahme, dass jede lebende Zelle die ganze Pflanze vergegenwärtigt und neu erzeugen kann, führt, wie schon gesagt, zur weiteren Frage, auf welchen elementaren Eigenschaften es beruhe, dass gewisse Gewebe und Zellen diese Fähigkeit in einem so ausgeprägten Maasse besitzen, während sie in anderen Fällen nur theoretisch nachweisbar ist. Hier glaube ich, dass eine Hilfshypothese nützlich sein kann. Da die Kerne in allen Zellen der Pflanze identisch zu sein scheinen, nicht aber das Cytoplasma, so dürfte die Reproductionsmöglichkeit auf der Gegenwart des Zellkernes, die Reproductionsleichtigkeit auf der Beschaffenheit des Cytoplasma's beruhen. —

W i t t r o c k hat darauf aufmerksam gemacht, dass die Pflanzen mit Wurzelknospen beinahe ausschliesslich in einem festen, nährhaften Boden gefunden werden. Anderseits ist es bemerkenswerth, dass so viele Arten darunter eine entschiedene Neigung zur Apogamie, das heisst zu einer verminderten Sexualreproduction besitzen. D ü s i n g's Untersuchung macht es wahrscheinlich, dass zwischen diesen beiden Eigenthümlichkeiten ein gewisser Zusammenhang besteht, nämlich in so weit, dass eine sehr kräftige Ernährung im Embryonalleben oder im Knospenleben die Sexualität überflüssig macht, und das grosse Contingent, welches die Culturpflanzen in einer Liste der apogamen Formen aufzuweisen haben, beweist die Richtigkeit dieses Schlusses auf schlagende Weise [2]). Da es nun wohl als sicher betrachtet werden kann, dass die Knospenbildung auf Wurzeln eine Aeusserung sehr kräftiger Nah-

[1]) Die Form der Höhlung ist gleichgültig, alle Punkte des Markes können Cambium erzeugen.

[2]) Die besseren Varietäten von Gerste und Hafer sind cleistogam, die schlechteren, so wie die wilden Stammformen, befruchten sich zwar gewöhnlich selbst, sind aber phasmogam.

rungsvorgänge ist, ist es einigermaassen begreiflich, wesshalb eben die Pflanzen mit Wurzelknospen die Sexualität besser entbehren können wie andere Arten. Natürlich lässt sich diese Argumentation auch auf diejenigen Arten, welche sich auf andere Weisen stark vegetativ vermehren, anwenden, und die Erfahrung ist hiermit in Uebereinstimmung.

Verbindet man diese Betrachtung mit der vorhergehenden, so ist man gezwungen anzunehmen, dass die Zellkerne während des Wachsthums und der Theilung etwas verlieren können, was darin sowohl durch eine kräftige Ernährung wie durch den Befruchtungsvorgang wieder hineingebracht werden kann. Die Annahme der Existenz constanter Molekülgruppen mit unveränderlichen Eigenschaften (im Sinne von Darwin's Pangenesis), welche die Grundlage von jedem besonderen Organe und von dessen Theilen darstellen, und welche in einer bestimmten Anzahl vorhanden sein müssen, um die normale Entwicklung veranlassen zu können, scheint mir zureichend und allein im Stande, solche Aeusserungen des organischen Lebens zu erklären. Bemerkenswerth ist, dass die Sexualorgane, welche, unserer Ansicht zufolge, bei sehr kräftiger Ernährung weniger wichtig werden, dabei auch — ganz im Gegensatz zu den Vegetationswerkzeugen — so ausserordentlich leicht verkümmern; die allumfassende Kraft des Nützlichkeitsprinzips tritt hierbei überraschend zu Tage. —

Von allgemeinem Interesse scheint mir der im Folgenden gelieferte Nachweis zu sein, dass viele Wurzelknospen unzweifelhaft metamorphosirte Wurzelanlagen sind, so dass dieser bisher als seltene Ausnahme angesehene Uebergang bei einigen Pflanzen sich als ein normaler Bildungsvorgang ergibt.

Das umgekehrte Verhalten, nämlich die Bildung von Nebenwurzelanlagen durch Metamorphose eines Knospenvegetationspunktes, dürfte nicht selten sein bei den zahlreichen Pflanzen mit blattachselständigen Nebenwurzeln. Ich glaube, diese Umwandlung z. B. bei einigen Crassulaceen sicher beobachtet zu haben, die anatomische Untersuchung bietet aber erhebliche Schwierigkeiten. — Ein solcher plötzlicher Organwechsel an einer bestimmten Stelle der Pflanze scheint auf den ersten Blick, nicht allein in physiologischer Beziehung, sondern vor Allem für die vergleichende Morphologie eine sehr wichtige Erscheinung, denn man konnte meinen, dass derselbe bei der phylogenetischen Entwicklung eine Rolle gespielt hätte, wodurch der Nachweis der Homologie erschwert oder unmöglich geworden wäre, indem Theile, welche ihrer inneren Natur nach verschieden waren, an homologe Stellen geführt sein könnten. Allein der beinahe lückenlose Parallelismus in der vergleichenden Morphologie der Organe, sowohl der Wirbelthiere wie bei den Phanerogamen, lehrt unzweideutig, dass die hier betrachtete Unregelmässigkeit nur so selten von Einfluss gewesen sein kann, dass man geneigt ist, dieselbe mit der besonderen Natur der Knospen und Wurzeln, welche sich den übrigen Theilen als Reproductionsorgane gegenüberstellen, in Verbindung zu bringen. Um so mehr kann man sich dazu veranlasst fühlen, als auch in anderen Gruppen der organischen Welt (Cölenteraten, Vermes) die Reproductionszellen viel Freiheit in ihrer Stellung besitzen — durchaus nicht immer an homologe Stellen gebunden sind. Dieses dürfte damit zusammenhängen, dass jede lebende Zelle, welche einen normalen Zellkern besitzt, die Möglichkeit in sich trägt, das Ganze zu reproduziren, die Natur konnte desshalb so zu sagen jeden Punkt des Körpers für Reproductionszwecke einrichten. Von diesem Standpunkte aus betrachtet, müssen wir uns eben mehr darüber wundern, dass die Stellung der Reproductions-

zellen so oft eine homologe ist, als darüber, dass wir in vielen Fällen eine solche Homologie nicht vorfinden. —

Einige andere mit der Lehre der Fortpflanzung und der Descendenz zusammenhängende Probleme, welche sich aus meiner umfassenden Fragestellung von selbst ergaben, habe ich zwar im Folgenden kurz besprochen, allein eine ausführliche Darstellung derselben konnte hier nicht gegeben werden, um diese Abhandlung nicht über Gebühr auszudehnen. In Darwin's unerschöpflichen Werken, in Braun's *Polyembryonie* und in Düsing's *Regulirung der Geschlechtsverhältnisse*, findet man viele dieser Fragen von anderen Gesichtspunkten aus beleuchtet. Auch in Vöchting's *Organbildung* und in seiner interessanten Untersuchung über die Regeneration bei *Marchantia polymorpha* kommen viele wichtige Angaben und Betrachtungen vor, welche die meinigen vervollständigen.

KAPITEL I.

Unterschied zwischen Callusknospen und Wurzelknospen — Knospen und Wurzeln bei den Gefässcryptogamen, Gymnospermen und Monocotylen.

§ 1. *Der Unterschied zwischen Callusknospen und normalen Wurzelknospen.*

Schon bei einer oberflächlichen Betrachtung der Wurzelknospen findet man, dass dieselben von zweierlei verschiedenem Ursprung sein können. Es kann nämlich entweder durch äussere Eingriffe entstandener Wundcallus zu ihrer Entstehung Veranlassung geben, oder die Wurzelknospen sprossen, vollständig unabhängig von zufälligen Verwundungen, an mehr oder weniger genau bestimmten Stellen der Mutter wurzel hervor. Die Callusknospen bilden sich am leichtesten aus der Calluswucherung, welche aus Cambium und Weichbast an der oberen (dem Stengel am nächsten gelegenen) Wundfläche abgeschnittener Wurzelstücke bei zahlreichen Dicotylen hervorquillt. Seltener entstehen dieselben aus dem Callus, welcher zufälligen Seitenwunden der Mutterwurzel aufsitzt, noch seltener aus dem Holzparenchym fleischiger Wurzeln. Diesen letzteren Fall habe ich bei eingepflanzten Wurzelstücken von *Pastinaca sativa* beobachtet.

Unter dem Begriff normaler Wurzelknospen wünsche ich alle diejenigen aus Wurzeln hervorgehenden Knospen zusammenzufassen, welche vollständig unabhängig von zufälliger Verwundung und bei den normalen Wachsthumsverhältnissen aus den noch mit der Mutterpflanze verbundenen Wurzeln entstehen. Ein Uebergang zwischen den letzteren und den Callusknospen wird von denjenigen Knospen gebildet, welche bei einzelnen Pflanzen aus lateralen Calluswucherungen hervorgehen. Diese Letzteren bilden sich, besonders bei fleischigen Wurzeln, beim Dickenwachsthum aus den an den Durchbruchstellen der Seitenwurzeln vorkommenden Rindenspalten. Ein sehr schönes Beispiel solcher seitlichen Callusknospen habe ich bei *Populus alba* aufgefunden, während *Populus tremula* und *P. dilatata* normale Wurzelknospen erzeugen. Auch *Geranium sanguineum* und *Brassica oleracea* kann ich hier als Beispiele nennen.

Der Unterschied zwischen normalen Wurzelknospen und Callusknospen ist bisher von den Botanikern nicht mit genügender Schärfe beachtet. Zwar finden sich in Trécul's Abhandlung über die Adventivknospen [1]), die beiden Knospenformen sorgfältig abgebildet, — und dadurch mag sich erklären, dass selbst practische Gärtner den Gegensatz bemerkt haben [2]) —, in seiner Abhandlung selbst nimmt Trécul darauf aber keine weitere Rücksicht. Andere Botaniker — mit Ausnahme von Wittrock — haben sich, für so weit mir bekannt, durchaus nicht oder nur beiläufig mit dieser Unterscheidung befasst. Wittrock dagegen gibt in seiner Uebersicht der Wurzelsprosse überall an, ob die Knospen aus der Schnittfläche oder aus den Seiten der Wurzeln entstehen [3]).

§ 2. *Wurzelknospen bei den Gefässcryptogamen. Veränderung eines Wurzelvegetationspunktes in eine Knospe.*

Wahre laterale Wurzelknospen sind mir bei den Gefässcryptogamen nicht mit Sicherheit bekannt. Zwar findet man bisweilen angegeben, dass *Ophioglossum vulgatum* solche erzeugt, und Duval-Jouve erwähnt das Vorkommen derselben bei *Botrychium Lunaria* [4]). Diese Angaben scheinen sich aber nicht weiter bestätigt zu haben.

Dagegen gibt es mehrere Fälle unter den Gefässcryptogamen, bei welchen die Umwandlung eines Wurzelvegetationspunktes in eine Knospe zu Stande kommt. Sachs scheint eine solche Veränderung bei dem Farn *Platycerium Willinkii* beobachtet zu haben, er führt aber keine weiteren Besonderheiten darüber an. Bei *Ophioglossum vulgatum* beruht die vegetative Vermehrung, welche eine sehr ausgiebige ist, ausschliesslich auf der Bildung von Wurzelknospen. Diese besitzen zwar anscheinend eine laterale Stellung, dieselben sind aber aus dem terminalen Vegetationspunkt der Wurzel entstanden [5]). Sofort nach ihrer Anlage sprosst aus ihrer Basis eine Nebenwurzel, welche ganz genau in der Richtung der Mutterwurzel fortwächst und von dieser die unmittelbare Verlängerung darzustellen scheint, weil sie sich auch in Form und Dicke davon durchaus nicht unterscheidet. Bei einer genauen Untersuchung kann man aber den wahren Sachverhalt daraus kennen lernen, dass sich rings um die Ansatzstelle der neugebildeten Wurzel ein kleiner Gewebering findet, welcher dadurch entsteht, dass eine dünne Rindenschicht der Knospenbasis, aus welcher die Wurzel hervorsprosst, von dieser durchbrochen und zur Seite gedrückt wird; diese Gewebeschicht ist aber nicht dicker wie ein oder zwei Zellen, sodass die Wurzel beinahe vollständig exogen entsteht. Im Ganzen verhält sich die Sache so, als ob sich an der Wurzelspitze ein Embryo gebildet hat. Es war van

---

[1]) Sur l'origine des bourgeons adventifs, *Annal. d. sc. nat. Bot.*, Sér. 3, Vol. 8, pg. 268, 1847.

[2]) Man vergl. z. B. Neumann's *Kunst der Pflanzenvermehrung* (aus dem Französischen), 4. Aufl., pg. 78, Weimar 1877.

[3]) Wittrock's Eintheilung der Wurzelknospen in reparate, additionelle und necessäre (*Bot. Centralblatt*, B. 17, 1884), fällt aber nicht mit der meinigen zusammen.

[4]) Billot, *Annotations à la Flore de France et d'Allemagne*, 1862, pg. 253.

[5]) G. Holle, Ueber Bau und Entwicklung der Vegetationsorgane der Ophioglosseen, *Bot. Zeit.* 1875, Taf. 3, Fig. 10.

Tieghem, welcher diese Entwicklungsgeschichte zuerst beschrieb [1]), und ich habe seine Angaben bestätigt gefunden.

Pfeffer entdeckte, dass die noch mit der Pflanze verbundenen Wurzelträger von *Selaginella laevigata, S. Martensii* und *S. inaequalifolia* unter gewissen Bedingungen zu Zweigen auswachsen können [2]). Er fand, dass die Entfernung der beiden Gabeläste oberhalb der Winkel, wo die Stengel dichotomiren, das Auswachsen der dort befindlichen ruhenden Anlagen der Wurzelträger zu beblätterten Zweigen begünstigt, und ferner sah er, dass der basale Theil solcher aus Wurzelträgern entstandener Zweige in mancher Beziehung ein Zwischengebilde zwischen Stengel und Wurzelträger war. Ich selbst fand, dass wenn man Stecklinge schneidet von *Selaginella Martensii, S. denticulata* und *S. Galeottiana* und diese in feuchten Sand hineinstellt, die Wurzelträger *(bw')* unter der Bodenoberfläche in gewohnter Weise auswachsen und Wurzeln bilden *(wt* Fig. 1 Taf. I), während die oberhalb des Bodens vorkommenden Anlagen der Wurzelträger *(bw)* auf der von Pfeffer angegebenen Weise zu Blattsprossen *(bs)* auswachsen. Diese sind sofort grün, — allein dieses gilt auch für die gewöhnlichen oberirdisch entstandenen Wurzelträger —, und sie tragen zuerst einige unter sich gleiche lancettliche primordiale Blätter, welche sehr verschieden sind von den sich später entwickelnden. Sie bilden unmittelbar nach ihrer Entstehung ein oder zwei neue Wurzeln *(wz),* welche so tief wie möglich an ihrer Basis, also in der nächsten Nähe des Mutterstammes entspringen.

Andere adventive Sprossungen wie diese aus Wurzelgebilden entstandenen, habe ich bei *Selaginella* nicht bemerkt und ich bin überzeugt, dass die vegetative Vermehrung dieser Pflanzen ausschliesslich und immer auf der hier beschriebenen Umwandlung beruht.

Hofmeister hat zwar eine ganz andere Auffassung der Adventivknospen der Selaginellen gegeben, wie die hier vorgetragene; ich vermuthe aber, dass er sich hat irreführen lassen durch die Nichtentfaltung des einen der Dichotomiezweige, wie es bei den Dichotomen oft vorkommt, und was natürlich bei der Beurtheilung der Sprossungssysteme zuerst zu Sicherheit gebracht werden muss.

Es sei mir erlaubt, der Uebersichtlichkeit halber an dieser Stelle die wenigen anderen in der Literatur genannten Fälle von Wurzelumwandlungen in Knospen einzuschalten.

Da durch Bertrand [3]) gezeigt worden ist, dass bei *Phylloglossum Drummondii,* entgegen der Annahme van Tieghem's, keine Wurzelknospen vorkommen, habe ich hier über in Sprosse sich verwandelnde Wurzeln bei den Gefässcryptogamen nichts Weiteres mitzutheilen.

Unter den Monocotylen zeigt *Neottia Nidus-avis* bekanntlich Erscheinungen, welche mit den bei *Ophioglossum* beobachteten in mancher Hinsicht übereinstimmen [4]).

---

[1]) Recherches sur la symétrie de structure des plantes vasculaires. *Ann. d. sc. nat. Bot.* 1872, pg. 114.

[2]) Die Entwicklung des Keimes der Gattung *Selaginella.* Hanstein's *Botan. Abhand.,* Bd. I, Heft 4, pg. 67, 1871.

[3]) *Comptes rendus* 1883, II, pg. 612 und 715.

[4]) E. Prillieux, De la structure anatomique et du mode de Végétation du Neottia Nidus-avis. *Ann. d. sc. nat. Bot.* 1856, Sér. 4, T. 55, pag. 267. E. Warming, Om rödderner hos Neottia nidus-avis. *Meddel. f. d. naturhist. Foren. i. Kjöbenhavn,* 1874, pag. 24 met Fig.

Die Metamorphose des Wurzelvegetationspunktes in eine Blattknospe scheint auch hier das einzige Mittel, wodurch diese gewöhnlich *annuelle* Pflanze zu perenniren vermag. In den Vogesen, wo man die Pflanze oft findet, habe ich 1885 vergebens nach Wurzelknospen gesucht, und auch Irmisch sagt[1]), dass sehr viele Pflanzen durchaus keine bilden und bei denjenigen Exemplaren, wo man mehrere solche Knospen beobachtet, sterben die meisten frühzeitig. In einem einzelnen Falle hat Irmisch die Knospe etwas hinter dem eigentlichen Vegetationspunkte gefunden und abgebildet, seine Figur zeigt eine laterale exogene, übrigens mit der terminalen durchaus übereinstimmende Knospe, welche in ihrer Stellung unabhängig von den Seitenwurzeln ist.

Es ist mir immer als ein auffallendes Zusammentreffen erschienen, dass *Neottia* ausser ihren wandelbaren Wurzelmeristemen noch die seltene Eigenschaft besitzt, ihre Nebenwurzeln exogen aus dem Stengel zu erzeugen, und dazu an den unterirdischen Rhizomen in solcher Menge, dass es nicht leicht ist, die Oberfläche des Stengeltheiles derselben zwischen den dichtgedrängten Wurzeln zu erblicken. Im Ganzen macht die Pflanze den Eindruck, als ob die Verwandtschaft zwischen ihren Wurzeln und Rhizomen eine viel nähere ist, wie bei ihren grünen Verwandten. Bei *Corallorhiza* und *Epipogium* ist diese Verwandtschaft eine so nahe geworden, dass man zweifelt, ob man für die unterirdischen Theile den Namen von Stengelorganen oder von Wurzeln gebrauchen muss. Es ist daher, als ob man eine »Bastardbildung« zwischen diesen beiden Organformen vor sich hat. Dieser Vergleich, wie fremd er auch anfänglich klingen mag, tritt dem Verständnis näher, wenn man annimmt, dass die verschiedenen Organe der nämlichen Pflanze oder des nämlichen Thieres aus verschiedenartigem Protoplasma entstehen, das zwar überall in den Zellkernen gleichmässig vertheilt ist, sich aber bei der Entwicklung entmischt, so dass man von dem eigentlichen Zellplasma, — wodurch die Form der Organe höchstwahrscheinlich zunächst bestimmt wird, — sagen kann: soviele durch Lage oder auf irgend eine andere Weise verschiedenartige Zellen, soviele verschiedene Cytoplasten gibt es. Die gleichzeitige Entwicklung zweier solcher elementarer Protoplaste würde sich mit Bastardirung vergleichen lassen.

Zu den Monocotylen mit wandelbaren Wurzelmeristemen zurückkehrend, muss ich noch erwähnen, dass nach Beer[2]) bei der Orchidee *Catasetum tridentatum* ein ähnlicher Fall wie bei *Neottia* vorkommt, und dass Goebel terminale Wurzelsprosse bei der Aroidee *Anthurium longifolium* fand[3]).

Um dieser Uebersicht eine gewisse Abrundung zu geben, will ich hier die Dicotylen mit in Betracht ziehen. Auch bei diesen ist die directe Veränderung einer Wurzelspitze in eine Knospe bisher nur ausserordentlich selten beobachtet. Von den drei diessbezüglichen Angaben, welche ich in meiner Literatur gefunden habe, scheint mir die Folgende der Erwähnung werth.

Bei einer von Karsten beobachteten doppelten Gartenbalsamine[4]) bildeten

[1]) Einige Bemerkungen über Neottia Nidus-avis und einige andere Orchideen. *Abhand. d. Naturw. Ver. zu Bremen*, Bd. 5, Heft 3, 1877, pg. 507.

[2]) Studien über die Orchideen, pg. 56 (Citat nach Irmisch).

[3]) Ueber Wurzelsprosse bei *Anthurium longifolium*. *Bot. Zeit.* 1878, pg. 645.

[4]) Blumenentwicklung aus einer Wurzelspitze, beobachtet von H. Karsten. *Flora* 1861, pg. 232.

sich aus der Spitze einer Adventivwurzel, welche an einem der unteren Stengelknoten sass, eine Inflorescenz von drei *Blüthenknospen;* kurz nachdem die Inflorescenz durch die Rinde nach aussen gekommen war, öffnete sich eine der Blüthen, ergab sich als doppelt und war mit den übrigen Blüthen der Pflanze identisch. Es geschah dieses in dem heissen Sommer von 1858 bei einer Pflanze, welche vor einem dem Osten zugewendeten Fenster in der vollen Sonne gewachsen war. Karsten hat die Blüthen-tragende Wurzel abgeschnitten und an A. Braun gegeben. Es gelang ihm nicht, durch künstliche Einflüsse die Veränderung aufs Neue zum Vorschein zu rufen.

Am Ende dieser Uebersicht habe ich hervor zu heben, dass der hier betrachtete Functionswechsel einer Organanlage eine viel allgemeinere Erscheinung ist, als wie man bisher glaubte; man hat dieselbe bei der Entwicklung mancher lateraler Wurzelknospen zu suchen, von welchen unten gezeigt werden wird, dass sie oft aus Wurzelanlagen entstehen.

§ 3. *Nebenwurzelstellung bei den Gefässcryptogamen.*

E. Janczewski hat eine sehr genaue Beschreibung der Wurzel- und Knospenbildung bei den Equiseten gegeben[1]), ich habe seine Angaben für *Equisetum arvense* und *E. limosum* bei der Nachuntersuchung durchaus zutreffend gefunden. Nachdem er darauf aufmerksam gemacht hat, dass man bei den Equisetenstengeln nicht selten Dichotomieerscheinungen beobachten kann, zeigt er, dass die scheinbar endogenen Knospen dieser Pflanzen wirklich exogen entstehen und zwar auf eine ähnliche Weise, wie bei den Moosen *Sphagnum* und *Fontinalis*, nämlich mitten unter den Rückennerven der Blätter aus den Stengelinternodien[2]); erst durch späteres Wachsthum gelangen die Knospen nicht nur an dem nach unten gekehrten Ende der Internodien, sondern noch tiefer hinab und brechen durch die Blattscheiden, welche sich auf dem Knoten *unterhalb* des genannten Internodiums finden, nach aussen; die zu den Knospen gehörigen Blätter stehen desshalb auf dem *zweitoberen* Knoten. Die Equisetumknospen haben also in Bezug auf die Blätter eine ähnliche Stellung wie die Wurzeln von *Ophioglossum* und *Botrychium*, welche in den Blattachseln stehen, anatomisch aber mit dem fünftoberen Blatte, unter dessen medianer Rückseite sie befestigt sind, zusammenhängen. Für unseren Zweck ist es nun besonders wichtig, dass die Wurzeln bei *Equisetum* immer zu einer Knospenanlage gehören, daraus entstehen.

---

[1]) Recherches sur le développement des bourgeons dans les Prêles, *Mém. d. l. Soc. d. sc. nat. de Cherbourg*, T. XX (2e Sér., T. X) 1876—77, pg. 69. Famintzin (*Mélanges biol. d. St. Pétersbourg*, T. 9, 1876, pag. 573) kam zu gleicher Zeit wie Janczewski zum Resultat, dass die Equisetenknospen exogen entstehen, doch enthält seine Arbeit nichts über die Wurzeln dieser Pflanzen.

[2]) Janczewski und Famintzin sagen zwar »in den Blattachseln«, das ist aber nicht richtig, denn die Knospen gehören weder zu den Blättern des nächst unteren Knotens, noch zu den Blättern des Knotens, auf welchen sie befestigt sind, sondern zu dem nächst oberen Knoten; ersteres desshalb nicht, weil sie noch höher entstehen wie die Blätter des Knotens, woraus sie hervorbrechen; zu diesen letzteren Blättern gehören sie nicht, weil sie zwischen denselben entstehen und nicht morphologisch damit zusammenhängen, allein dieser Zusammenhang existirt zu den Blättern des nächst höheren Knotens.

Man könnte die Sache auch dadurch klar legen, dass man sagte: die Pflanze bildet an den genannten Stellen Embryonen; diese Embryonen besitzen aber eine sehr eigenthümliche Structur, denn sie bestehen aus der Knospenanlage mit ein, zwei [1]), drei, vier, fünf oder selbst sechs Wurzelanlagen. An den oberirdischen Theilen wachsen die Knospen zu den wohlbekannten ruthenförmigen Zweigen aus, während die dazu gehörigen Wurzeln vollständig rudimentär bleiben, und theilweise atrophiren; mikroskopisch kann man dieselben jedoch unten an jedem Zweige auffinden. Unter der Erde bleiben die Knospen dagegen in ihrer Entwicklung zurück und nur die Wurzelanlagen entfalten sich. Bei *Equisetum limosum* findet die Wachsthumshemmung schon so frühzeitig statt, dass man selbst bei genauer mikroskopischer Betrachtung in erwachsenen Organen nur eine Wurzelgruppe ohne Knospe bemerkt, welche sich aber durch lückenlose Uebergangsreihen mit den oberirdischen Embryonen als homolog erweist. Janczewski nennt die eigenthümlichen Knospen, woraus diese Wurzelbündel entstehen, »rhizogene Knospen« und er bemerkt dazu: »Les vrais bourgeons rhizogènes dérivent, à ce qu'il nous a toujours semblé, de cellules-mères extérieures comme celles des bourgeons à rameaux; avec le temps le tissu de la gaine voisine les entoure de toutes parts et les rend réellement intérieures.«

Andere wie diese aus den »Knospen-Embryonen« oder deren Anlagen hervorgehenden Wurzeln besitzen die Equiseten (die Abbildungen der Calamiten erlauben die Annahme, dass sie in dem nämlichen Falle verkehrten) überhaupt nicht; die Hauptwurzel macht darauf natürlich keine Ausnahme.

Bei den Rhizocarpeen findet man die nämliche Beziehung zwischen Sprossen und Wurzeln wie bei den Equiseten. Da die Sache, für so weit mir bekannt, noch von keinem Botaniker in diesem Lichte betrachtet wurde, will ich hier die Resultate, wozu C. Nägeli gekommen ist [2]) und welche ich selbst für *Pilularia* und *Marsilia* bestätigt gefunden habe, erwähnen.

Bei *Marsilia quadrifolia* tragen die kriechenden Stämmchen auf der Oberseite zwei Blattreihen, welche ungefähr ¼ des Stengelumfanges von einander entfernt sind. Seitlich neben jedem Blatte, und zwar (mit Rücksicht auf die horizontale Lage der Stammachse) nach unten von demselben, befindet sich ein Ast, welcher fast gleichzeitig mit dem Blatt angelegt wird, aber sich langsamer entwickelt. Die Aeste sind demnach ebenfalls alternirend zweizeilig, und zwar mit einem Abstand von ungefähr 180°. Fast gleichzeitig mit dem Blatte und dessen Ast wird in gleicher Höhe (Entfernung vom Scheitel) eine Wurzel angelegt. Dieselbe ist von der Insertionsstelle des Blattes etwa um 90° entfernt. Ihm folgt sehr bald eine zweite, dem Blatte näher liegende, darauf zuweilen in gleicher Richtung noch eine dritte und selbst eine vierte, so dass diese Seitenwurzeln eine Querreihe bilden, deren letztes Element (nämlich das vierte, zuweilen auch das dritte) deutlich am unteren Theile des Astes stehen. Ausser diesen Seitenwurzeln kommen noch Adventivwurzeln vor, meistens 1—5 an einem Internodium. Sie nehmen in der Regel die Mittellinie der unteren Stengelseite ein, und bilden somit eine unpaare Zeile.

Die anatomische Untersuchung ergiebt, dass der Centralcylinder des Stämmchens sich aus meistens fünf Fibrovasalsträngen zusammenstellt, drei derselben liegen

[1]) Bei *Equisetum arvense* der gewöhnliche Fall, die beiden Wurzeln sitzen hier unmittelbar über einander.

[2]) *Beiträge zur Wissensch. Botanik,* Heft 1, pag. 54, 1858.

auf der Oberseite und sind Blattspurstränge, die zwei unteren sind stammeigen. Die Blätter senden je einen Strang in den Stamm, die Aeste drei, wovon der eine mit der Spur des zugehörigen Blattes, die zwei anderen mit den stammeigenen Strängen verschmelzen. Die Centralcylinder der Wurzeln verbinden sich mit dem benachbarten stammeigenen Strang; die der Adventivwurzeln vermittelst Schenkeln mit den beiden stammeigenen Strängen.

Schon bei den Keimpflanzen werden diese Verhältnisse genau auf die beschriebene Weise angetroffen [1]).

Bei *Pilularia globulifera* ist alles in der Hauptsache wie bei *Marsilia*. »Die Stellung der Blätter, Aeste und ersten Seitenwurzeln ist die nämliche. Die beiden Zeilen der letzteren sind einander viel mehr genähert als die beiden Blattzeilen. Auf die erste Seitenwurzel folgt bald eine zweite, zuweilen auch eine dritte, welche schon deutlich aus der Basis des Astes entspringt« (Nägeli l. c.). Die anatomischen Verhältnisse sind hier aber einfacher, da die Blattspurstränge im Stamme von *Pilularia* zu einem einzigen Strange verschmelzen und auch der stammeigene Strang einfach ist. Der Centralcylinder der Wurzeln verbindet sich nur mit dem zuletzt genannten Strange, derjenige des Seitenzweiges so wohl mit diesem wie mit dem Foliarstrange des Mutterorganes.

Strassburger hat gezeigt, dass auch bei *Azolla* die Wurzeln neben und auf den Seitenzweigen entstehen.

Bei den Lycopodien und den Selaginellen ist der Zusammenhang der Wurzeln mit den Seitenästen in vielen Fällen ebenso deutlich wie bei den Wasserfarnen. Zwar findet man in Bezug auf *Lycopodium* gewöhnlich angegeben, dass die am Stamme befindlichen Wurzeln ohne Ordnung daran vorkommen, Abbildungen zeigen aber meistens, dass die Wurzeln neben den Dichotomiewinkeln entspringen und sich nur dadurch von den Selaginellawurzeln unterscheiden, dass sie, bei den kriechenden Arten, aus der unteren Stammseite entstehen, während die Wurzeln bei *Selaginella* (vergl. pag. 16) der Oberseite des Stammes angehören. Bei *Lycopodium clavatum* und *L. inundatum* kann man leicht Wurzeln antreffen, welche von den eigentlichen Gabelstellen weit entfernt sind; allein eine genauere Betrachtung lehrt, dass neben manchen derselben (bei *L. inundatum* fand ich es immer so) ein rudimentär gebliebener Gabelzweig sitzt. Ob dieses auch für andere Arten zutrifft, kann ich nicht sagen, bezweifle es aber kaum. Für die unterirdisch angelegten Wurzeln von den aufrechten Lycopodien, wie *L. Selago*, konnte ich einen Zusammenhang mit der Gabelung zwar nicht überall deutlich sehen; die oberirdischen, durch die Rinde bis in den Boden durchdringenden Wurzeln entstanden bei meinem Materiale dagegen theilweise sehr deutlich, anderntheils zweifelhaft, in der Nachbarschaft der Gabelstellen.

Bei *Isoëtes* scheint die Wurzelstellung mit derjenigen der Blätter zusammen zu hängen, aber die Sache ist noch niemals genau untersucht. Auch das Verhalten der fossilen Dichotomen ist in dieser Beziehung unbekannt.

Bei *Ophioglossum* und *Botrychium* mit ihren fünfzeiligen Blättern findet sich gerade unter jedem Blatte — davon durch 4½ Internodien getrennt — eine Wurzel. Diese Stellung ist derjenigen bei *Equisetum* analog, nur mit dem Unter-

---

[1]) Man verg. z. B. die Figuren von Braun in: Nachträgliche Mittheilungen über die Gattungen *Marsilia* und *Pilularia*, *Monatsber. d. Akad. d. Wiss.*, 2, pag. 635, Berlin 1872

schiede, dass zu den Ophioglosseenwurzeln keine Knospen gehören. Die Marattiaceen scheinen sich ähnlich zu verhalten wie die Ophioglosseen; sie können aber Knospen bilden, welche am Blattgrunde oder auf den Stipeln sitzen.

Leider kann ich auf die Knospen- und Wurzelbildung bei den übrigen Farnen nicht näher eingehen, weil meine Kenntnisse in dieser Beziehung noch zu unvollständig sind; nur kann ich angeben, dass bei den von mir untersuchten Formen die Arten, welche Knospen aus dem Blattspiele erzeugen, ebenfalls aus diesem Organ Wurzeln bilden *(Aspidium Filix mas)*, während stengelständige Knospen auch von stengelständigen Wurzeln begleitet werden *(Polypodium vulgare)*.

§ 4. *Die Gymnospermen.*

Ueber die Knospen- und Wurzelbildung der Gymnospermen ist nur sehr wenig bekannt. Auch ich kann darüber nur einige fragmentarische Bemerkungen machen, und doch ist es eben diese Gruppe, wofür die Frage besonders interessant ist, so dass ich hoffe, dass andere Botaniker, welche in einer besseren Lage zur Beobachtung dieser Pflanzen sind wie ich, ihre Aufmerksamkeit darauf richten wollen.

Callusknospen werden in vereinzelten Fällen an abgehauenen Tannenstücken gefunden, wahrscheinlich nur in den seltenen Fällen, wenn die Wurzeln der Stöcke mit den Wurzeln benachbarter Fichten- oder Tannenbäume verwachsen sind, was nach Göppert[1]) dann und wann vorkommt. Geschieht eine solche Verwachsung nicht, so ist bei den von mir beobachteten Coniferen die Callusbildung aus dem Cambium so gering, dass von der Entstehung von Knospen durchaus nicht die Rede sein kann. Die Stockknospen wachsen aus zu orthotropen Sprossen, welche mit der Hauptachse identisch sind; sie gleichen denjenigen Knospen, welche bei manchen Coniferenstecklingen sich unterirdisch aus dem basalen Callus bilden. Dieselben besitzen durch diese Eigenschaft einen grossen gärtnerischen Werth, da die aus gewöhnlichen Seitenästen gewonnenen Stecklinge die Eigenthümlichkeiten, durch welche diese Seitenäste sich von der Hauptachse unterscheiden, nicht nur auf ihre Verzweigungen übertragen, sondern an und für sich beim Fortwachsen niemals verlieren, so dass sie auch nie mit der Hauptachse identisch werden können. Eine ähnliche Constanz der »Knospenindividuen« findet man bei manchen — besonders australischen — Papilionaceen, und in geringerem Grade bei den Rosen, dem Epheu und bei einigen anderen Pflanzenarten zurück. Das Vorkommen verschiedenartiger Sprosssysteme mit constanten erblichen Eigenschaften bei einer einzelnen Pflanze erinnert an die männlichen und weiblichen Zweige gewisser monöcisch gewordener Diöcisten, welche als Stecklinge benutzt ihr Geschlecht beibehalten.

Nur *Cunninghamia sinensis* scheint normale Wurzelknospen zu erzeugen, welche sich aus den Narben abgerissener Seitenwurzeln zu entwickeln vermögen und die Vermehrung dieser Pflanze durch Wurzellohden gestatten, wobei orthotrope und auch in anderen Hinsichten normale Individuen entstehen.

Araucaria Cunninghamii und *Ginko biloba* werden zwar durch Wurzelstecklinge vermehrt, allein die Natur der dabei entstehenden Knospen ist mir unbekannt, ich zweifle aber nicht, dass sie sich in den Seitenwurzelachseln bilden werden; mit Ginko-

[1]) Monographie der fossilen Coniferen, pag. 254, Leiden 1850, und anderswo.

wurzeln habe ich viele vergebliche Versuche gethan, die Wurzeln faulten immer, wahrscheinlich, weil mir die nöthige Bodenwärme fehlte.

Die Stengelorgane der Gymnospermen scheinen nur eine sehr beschränkte Neigung zur Nebenwurzelbildung zu besitzen, und dazu nur veranlasst werden zu können, wenn sie als Stecklinge verwendet werden. Bei einigen Versuchen, welche ich anstellte, um die Anordnung der Nebenwurzeln kennen zu lernen, fand ich, dass bei *Juniperus, Taxus, Thuya* in den Ansatzstellen der Seitenzweige an die Mutteräste noch die stärkste Neigung zur Wurzelbildung existirt, so dass man schliessen muss, dass sich an diesen Stellen, in der Rinde, eine relativ besonders wirksame rhizogene Schicht befindet.

§ 5. *Die Wurzelknospen der Monocotylen.*

Die bei den Monocotylen nur selten gefundenen Wurzelknospen will ich nach den Familien, worin mir solche bekannt geworden sind, aufzählen.

Liliaceen. Warming beschreibt das Vorkommen von ein oder zwei ziemlich grossen Zwiebeln auf den Wurzeln von *Scilla Hughii*[1]; eine genaue Betrachtung der von ihm gegebenen Figur zeigt, dass die Zwiebeln unzweifelhaft in den Seitenwurzelachseln sitzen und selbst an ihrer Basis neue Wurzeln erzeugen.

Dioscoreaceen. Vaucher, Karsten und Royer haben Notizen veröffentlicht über das Vorkommen von Wurzelknospen bei *Tamus communis,* anderswo fand ich auch *Tamus elephantipes* als Wurzelknospen erzeugend genannt, Näheres über diese Knospen ist mir aber unbekannt. Etwas besser bekannt sind die Sprossungsverhältnisse der Dioscoreaknollen. Die Oberfläche dieser Körper ist bei *Dioscorea sativa, D. japonica, D. edulis* und wahrscheinlich bei vielen anderen Arten mit Narben überdeckt, welche die Gipfel kleiner Rindenhügel einnehmen; dieselben entsprechen den abgestorbenen, im vorhergehenden Sommer gebildeten annuellen Seitenwurzeln. Pflanzt man ganze Wurzeln oder Schnittstücke davon im Frühjahr in feuchten Sand, so sieht man bei Kammertemperatur schon nach wenigen Tagen an vielen Stellen, welche zu den eben genannten Narben durchaus nicht in Beziehung stehen und wie diese augenscheinlich *völlig regellos* angeordnet sind, aus der Rinde Seitenwurzeln hervorbrechen. Der anatomische Vorgang dabei ist durchaus mit der Nebenwurzelbildung aus den Monocotylenstengeln zu vergleichen, und dieses um so mehr, als die Dioscoreenknollen, obschon wahre Wurzelorgane, vollständig in ihrem Bau mit Monocotylenstengeln übereinstimmen. Man findet nämlich in denselben einen stark entwickelten Centralcylinder, welcher von einer ungefähr Millimeter-dicken Rinde eingeschlossen ist. Die Oberfläche des Centralcylinders besteht aus einem 6—10 Zellenschichten dicken Pericambiummantel (»couche dictyogène« von Mangin, »Perizikel« von van Tieghem); die Gefässbündel, welche collateral sind mit nach aussen gewendetem Phloëm, liegen ordnungslos im Grundgewebe des Centralcylinders und sind oft theilweise im Pericambium versenkt. An den Stellen, wo sich eine Nebenwurzel bildet, sieht man das Periderm der Rinde aufreissen und eine saftige, aus losen Zellen bestehende, weisse, kuppenförmige Masse hervortreten, worin sich die Nebenwurzel befindet. Der Centralcylinder sowie die innere Rinde der Letzteren entsteht aus dem Pericambium, die äussere Rinde, die Epidermis und

[1] *Botan. Tidskr.* 1877, pg 53.

die Wurzelmütze aus der Rinde der Mutterwurzel. Die benachbarten Gefässbündel des Centralcylinders, deren oft zwei oder drei unter einer einzigen Wurzelanlage liegen, treten bald durch Gefässstränge mit dieser Neubildung in Verbindung.

Die meisten Seitenwurzeln wachsen nun weiter zu einfachen Wurzelfasern aus. Einzelne derselben, namentlich diejenigen, welche sich an der Spitze der eingepflanzten Wurzeln oder Wurzelstücke befinden, sind von dem ersten Augenblicke, wo ich dieselben beobachtete, in unmittelbarer Verbindung mit einer Knospe, welche sich so frühzeitig entwickelt hatte, dass ich nicht feststellen konnte, ob die Seitenwurzel aus der Knospe oder umgekehrt die Knospe aus der Seitenwurzel entstanden war; das Ganze macht desshalb, wie Sachs bemerkt [1]), schon von Anfang an den Eindruck eines Embryo. Dieser Vergleich ist auch in soweit zutreffend, als das spätere Wachsthum der Seitenwurzel unterhalb der Knospe eine andere Richtung einschlägt, wie wenn keine Knospe damit verbunden ist; sie wird nämlich stark positiv geotropisch und es entsteht daraus eine neue Knolle eben wie aus der Hauptwurzel eines Keimlinges; Wurzel und Knospe zusammen bilden denn auch später eine Pflanze, welche eine gewöhnliche Hauptwurzel zu besitzen scheint und sich durchaus nicht von einer Samenpflanze unterscheidet. Da die Wurzelknospen nur sehr vereinzelt entstehen, ist es schwierig, ihre ersten Anlagen zu finden, mir ist das wenigstens noch nicht gelungen. Kaum brauche ich noch zu erwähnen, dass ich für die allgemeine Ansicht, zu jeder Wurzel gehöre ausnahmslos eine Knospe wie bei *Equisetum*, in den Dioscoreaknollen mikroskopisch keine Stütze gefunden habe.

Orchideen. Die fleischigen Orchideenwurzeln scheinen sich oft sehr gut für die Reproduction zu eignen und verdienen in dieser Hinsicht näher untersucht zu werden. Bei *Spiranthes autumnalis* und *S. aestivalis* kann man das Oberende der Wurzel bis auf beträchtliche Tiefe entfernen und dennoch aus dem Unterende eine Knospe hervorgehen sehen, welche die Pflanze so zu sagen unmittelbar regenerirt, weil dieselbe schon bei ihrer Entstehung mit breiter Basis der Wundfläche aufsitzt und später die regelrechte Verlängerung der Wurzel darzustellen scheint. Auch bei *Neottia Nidus-avis* hat Irmisch ein ziemlich starkes Reproductionsvermögen in abgeschnittenen Wurzelstücken beobachtet. Bei *Sturmia Loeselii* [2]), *Malaxis paludosa* und *M. monophyllos* findet man bisweilen in der freien Natur eine kleine Gruppe von Knospen auf dem Gipfel (Oberende) unversehrter vorjähriger Knollen, welche durchaus unabhängig von den Blättern sind, und wahre Adventivknospen genannt werden können [3]).

Inzwischen scheinen die lateralen Sprosse auf den Orchideenwurzeln selten zu sein. Dass dieselben vereinzelte Male bei *Neottia* gefunden wurden, ist schon oben (pag. 19) erwähnt. Wichtiger und allgemeiner ist das Vorkommen seitlicher Knospen auf den Wurzeln von *Cephalanthera rubra,* welche durch

[1]) Stoff und Form der Pflanzenorgane, *Arbeiten d. bot. Inst. in Würzburg.* Bd. II, 1882, pg. 709.

[2]) Für *Sturmia* abgebildet bei Irmisch, Zur Morphologie der Knollen- und Zwiebelgewächse, Taf. X, Fig. 18*a*, Berlin 1850.

[3]) Bekanntlich erzeugt *Malaxis paludosa* ebenfalls kleine Gruppen von Knospen an den Blattspitzen. Ob diese so ausserordentlich propagationsfähigen Individuen reichlich Samen tragen, wofür die Art im Allgemeinen bekannt ist, verdient nähere Untersuchung.

Irmisch ausführlich beschrieben worden sind[1]. Dieselben sitzen vereinzelt oder in kleinen Gruppen von zwei bis drei neben oder auf der Basis von Seitenwurzeln, welche sich von der Mutterwurzel abzweigen, sie besitzen also genau die nämliche Stellung wie die wurzelbürtigen Zwiebeln von *Scilla Hughii* und die Reproductionsknospen der Dioscoreenknollen. Irmisch fand, dass nichtblühende Pflanzen, welche an schattenreichen Stellen wachsen, besonders zu der betrachteten Knospenbildung geeignet sind. Die knospentragenden Wurzeln können noch mit der Mutterpflanze verbunden sein, oder ganz frei im Boden liegen und dann noch lange Zeit fortwachsen und sich verzweigen. Sind die Knospen zu selbständigen Pflänzchen geworden, so bleiben dieselben oft einen ganzen Sommer in schlafendem Zustand im Boden zurück. Für einige andere Cephalantheraarten, wie *C. pallens, C. ensifolia* und *C. grandiflora,* glaubt Irmisch, dass die Reproduktion vermittelst Wurzelknospen sehr wahrscheinlich ist, festgestellt ist dieses aber noch nicht.

In einer Gartenzeitschrift fand ich die Angabe, dass bei *Phalaenopsis Schilleriana* Seitenknospen auf den Luftwurzeln vorkommen[2]; möglicherweise sind noch mehrere dergleichen Bemerkungen, die Orchideen betreffend, in der gärtnerischen Literatur zu finden.

In den übrigen Monocotylenfamilien sind mir noch keine Seitenknospen auf Wurzeln bekannt geworden.

§ 6. *Nebenwurzelstellung bei den Monocotylen.*

Wenn an den unterirdischen Organen, den Knollen, Zwiebeln oder Rhizomen bei den Monocotylen eine neue Knospe entsteht, so ist es eine sehr allgemeine Erscheinung, dass sich entweder aus der Basis dieser Knospe oder in der Nähe davon aus dem Mutterorgane eine oder mehrere Wurzeln bilden. So sieht man z. B. auf vielen Knollen von *Crocus vernus* im Frühjahr eine dicke rübenförmige Wurzel aus jeder sprossenden Knollknospe nach unten wachsen, so dass die Oberfläche der Knollen dann mit mehreren an Keimpflanzen erinnernden Sprossungen bedeckt sein kann. An den unterirdischen Sprossen von *Triticum repens* findet man meistens drei Nebenwurzeln auf jedem Knoten. Die zwei grössten davon, und niemals fehlenden, stehen rechts und links von der Knospe auf einem etwas niederen Niveau, die dritte ist gewöhnlich der Knospe gegenüber gestellt, was wohl durch die Wirkung der Schwere zu erklären sein dürfte, bisweilen sitzt die dritte Wurzel mitten an der Basis der Knospe; sind vier Wurzeln vorhanden, so sitzen sie in zwei Bündeln von zwei Stück rechts und links von der Knospe. Bei den Tulpen gehört zur neuen, in die Zwiebel verändernden Knospe ein ganzes Packet von Wurzeln und ebenso ist es bei den Colchicum-, Bulbocodium- und Merendriaknollen etc. Bei *Orchis* sitzen die Wurzelanlagen so dicht neben einander, dass dieselben zu den bekannten handförmigen oder kugeligen Wurzelknollen zusammenwachsen[3]. Bei *Calla palustris* und bei gewissen Hydrocharisarten sitzen mehrere oder eine einzelne Wurzel über oder neben den Seitenknospen in den Achseln der Scheidenblätter. Alle diese Fälle, welche jeder-

[1]) Irmisch, *Beiträge zur Morphologie und Biologie der Orchideen*, Leipzig 1853, pg. 32.

[2]) *The Gardener's World*, I, 1885, Fig.

[3]) Auf diese Weise erklärt van Tieghem die vom gewöhnlichen Wurzelbau abweichende Structur der Ophrydeenknollen.

mann leicht mit sehr vielen ähnlichen wird vermehren können, stimmen darin überein, dass der neue Spross und die neuen Wurzeln sich zu einander verhalten wie diese Theile im Embryo; die auf diese Weise entstandenen eigenthümlichen Knospenindividuen zeichnen sich aber gewöhnlich (nicht immer) dadurch aus, dass sie eine ganze Menge von Wurzeln anstatt eine einzige, wie der Keimling besitzen. Diese Betrachtungen über einen durch bisher unerklärte Correlation geregelten Zusammenhang zwischen Seitenknospen und Nebenwurzeln, welche wir gegenwärtig bei vielen unterirdischen Stengeltheilen, im vorigen Paragraphen bei gewissen Wurzeln von Monocotylen kennen lernten, erlauben es die bei den unterirdischen Theilen dieser Pflanzen oft ziemlich complizirten Verzweigungsverhältnisse schnell zu verstehen, und ihre Richtigkeit und Allgemeinheit geht besonders daraus hervor, dass sie auch auf viele Dicotylenknollen und Zwiebeln anwendbar sind. Zur Erläuterung meiner Meinung in letzterer Beziehung beschränke ich mich auf die Erwähnung eines einzelnen Beispieles. Bei *Adoxa Moschatellina* findet man im April an den Zwiebelchen normaler Weise eine einzelne, an ihrer Basis stark verzweigte Wurzel, diese entsteht aus dem Rhizome unten an der Mittellinie der Rückenseite einer Zwiebelschuppe, gehört aber morphologisch und physiologisch zur Achselknospe dieser Schuppe, welche sich entweder zum blühenden Sprosse oder zu einem unterirdischen Ausläufer entwickelt, die Wurzel muss so zu sagen die Schuppe durchbohren, um nach aussen zu kommen; der anatomische Ort der Entstehung correspondirt mit der Stelle, wo die Centralcylinder von Seitenknospe und Blattschuppe zusammenkommen [1]). Selbst eine so sonderbar gebaute Pflanze wie *Corydalis solida* lässt sich der gegebenen Regel sehr wohl unterordnen.

In einigen Fällen lässt sich der Zusammenhang zwischen Nebenwurzeln und Seitenknospen an unterirdischen Stengeltheilen erst durch eine ausführliche anatomische Untersuchung feststellen, während die äusserliche Betrachtung vollkommene Unabhängigkeit zwischen den beiden Organarten vermuthen lässt. Ein sehr schönes Beispiel davon ist die Asphodelee *Antholyza aetiopica*, deren scheibenförmige, unterirdische, knollenartige Stengel mit gewöhnlichen blattachselständigen Sprossknospen bedeckt sind, während ihre Nebenwurzeln scheinbar ordnungslos überall aus der Knollenoberfläche hervorbrechen. Sucht man die Entstehungsorte dieser Wurzeln auf, so findet man, dass dieselben sich mitten in der Dicke der primären Rinde, also weit entfernt von der Oberfläche des Centralcylinders der Knollen, an die Gefässbündel der Seitenknospen ansetzen, und zwar in der Weise, dass ein bis drei solcher Wurzeln sich als zu einer Knospe gehörig ergeben [2]). Vorläufige Untersuchungen ergaben, dass dieses Verhalten bei vielen Zwiebeln vorzukommen scheint; die erheblichen Schwierigkeiten, welche sich einer richtigen Auffassung der Präparate von solchen Organen entgegenstellen, veranlassen mich jedoch, diese Meinung nicht ohne Einschränkung auszusprechen.

In wieder anderen Fällen ist ein Zusammenhang zwischen den Seitenknospen und den Nebenwurzeln, wie es scheint, durchaus nicht vorhanden. Ich erinnere z. B.

[1]) An einem anderen Fundorte der Pflanze gehörten zwei Wurzeln zur Knospe, die eine sass im linken, die andere im rechten Winkel zwischen Rhizomachse und Deckschuppenrand.

[2]) Eine Abbildung von diesem Verhalten gibt Mangin, Origine et insertion des racines adventives, *Ann. d. sc. nat. Bot.*, T. 14, 1882, Pl. 13, Fig. 41.

an die zahlreichen Monocotylenrhizome mit anscheinend ordnungslosen internodialen Nebenwurzeln. Inzwischen sind diese bei den horizontalkriechenden Rhizomen gewöhnlich auf der Unterfläche gestellt, oder doch wenigstens hier am reichlichsten entwickelt. Man weiss, dass dieses die Folge der Schwere ist, welche auf einer unbekannten Weise das junge Pericambium der Unterseite der horizontal fortwachsenden Endknospe affizirt, und daraus schon sehr frühzeitig eine, durch kraftigere Zelltheilung sich von dem Pericambium der oberen Rhizomseite unterscheidende rhizogene Schicht bildet. Bedenkt man aber, und das soeben angeführte ist davon ein Beispiel, in wie hohem Maasse und wie ganz allgemein die Wurzelbildung unter dem Einfluss von äusseren Bedingungen, wie Licht, Schwere, Feuchtigkeit und Sauerstoffzutritt steht, und ferner, dass die Strombahnen der plastischen Nahrung die Stellen der Wurzelbildung unzweifelhaft beherrschen, endlich wie leicht die verschiedenartigsten Organe, wie z. B. die Rückennerven der Blätter von *Crinum Capense* die Basis der Früchte von *Lilium speciosum,* die Wundränder abgeschnittener Zwiebelschuppen von *Lilium triginum,* die Blüthenstielchen der treibenden Blüthen von *Vallisneria spiralis* Wurzeln erzeugen, so muss man sich viel eher darüber wundern, dass wir in so vielen Fällen eine Correlation zwischen Sprossknospen und Wurzeln nachweisen können, als darüber, dass dieses in sehr vielen anderen Fällen nicht gelingt.

Eine Untersuchung der grünen, weniger metamorphosirten Stengeltheile der Monocotylen ergibt erstens als Resultat, dass bei diesen Organen die nodale Stellung der Nebenwurzeln die durchgehende Regel ist. Wesshalb ist dieses der Fall? Warum entstehen die Wurzeln nicht auch hier, wie bei so vielen Rhizomen über der ganzen Länge der Internodien zerstreut? Mangin beantwortet diese Frage mit dem Nachweise [1]), dass das Pericambium des Centralcylinders in den Knoten durch wiederholte Theilung eine sich für die Wurzelerzeugung besonders gut eignende Schicht (couche rhizogène) gebildet hat. Wir können nun aber weiter fragen, wesshalb diese Umwandlung eben hier so frühzeitig zu stande gekommen ist. Nur drei Möglichkeiten liegen hier vor: Entweder der Einfluss der Blätter oder derjenige der Seitenknospen muss der Erscheinung zu Grunde liegen, oder Blätter und Seitenknospen begünstigen beide die Wurzelentwicklung. Dass die Blätter durch die Nahrung, welche sie in die Stengel ergiessen, die Wurzelbildung fördern, ist unzweifelhaft, man denke z. B. an die Blätter von *Ficus elastica* oder *Aucuba japonica,* welche, wie schon früher hervorgehoben, als Stecklinge behandelt aus der Wundfläche ihres abgeschnittenen Stieles ein kräftiges und schönes Wurzelbündel treiben. Allein ein solcher Einfluss kann in dem vorliegenden Falle nicht die Ursache der Wurzelbildung sein, denn diese, oder besser die Entstehung der speciell rhizogenen Gewebeschicht, fällt in eine Zeit, wenn die Blätter selbst noch jung und farblos sind und ihre Nahrung aus dem Stengel schöpfen müssen. Nun kann man zwar annehmen, dass das junge Blatt einen unbekannten Einfluss ausübt auf das Meristem des zu diesem Blatte gehörigen Knotens; überlegt man aber, dass die Erzeugung der Nebenwurzeln doch gewiss in der Hauptsache zum Nutzen des Mutterstengels und besonders der Verzweigungen desselben dienen muss, so wird es kaum abweisbar anzunehmen, dass es auch die jungen Seitenknospen selbst sein werden, welche das Knotenmeristem zur Wurzelerzeugung reizen.

---

[1]) Origine et Insertion des racines adventives, l. c., pag. 294 etc.

Ausser durch die Allgemeinheit der nodalen Nebenwurzelstellung geben ferner manche niedere Monocotylen, besonders die *Najadeen,* noch auf eine mehr directe Weise Belege für meine Ansicht. So kann man von den Nebenwurzeln von *Elodea canadensis, Zanichellia palustris* und *Halophila ovata* eher behaupten, dass sie aus der Basis der Seitenknospen entstehen, wie aus dem Gewebe des Mutterstengels. Bei *Zostera, Posidonia* und *Ruppia* ist der Zusammenhang mit der Seitenknospe zwar weniger deutlich, weil der Abstand zwischen Knospen und Wurzeln hier grösser, und die Stellung der letzteren weniger constant ist, jedoch ist dieser Zusammenhang auch hier unzweifelhaft vorhanden. Bei den Arten von *Potamogeton* sind die Nebenwurzeln zwar auf sehr verschiedene Weise mit den Knoten verbunden und nur selten blattachselständig, wie bei *Potamogeton densus,* allein ihr allgemeines Verhalten spricht für unsere Regel. Wir finden also in dieser Familie, wenn auch nicht überall, so doch weit verbreitet, eine unverkennbare Analogie in Bezug auf ihre Nebenwurzelstellung mit derjenigen der früher besprochenen Gefässcryptogamen. Bei vielen anderen Monocotylen lassen sich ähnliche Verhältnisse nachweisen.

§ 7. *Blattknospen bei den Monocotylen.*

Die bei den Monocotylen nur selten vorkommenden normalen Blattknospen stehen bei den noch mit der Mutterpflanze verbundenen Blättern gewöhnlich an der Blattspitze und dabei auf der Blattoberseite, ich erinnere z. B. an die Knospen von *Curculigo orchidioidea* [1]), *Drimia licancina* und an den kleinen Knospenkamm von *Malaxis paludosa.* Die Blattknospen von den Aroideen *Atherurus ternatus* und *Amorphophallus bulbiferus,* ferner von *Eucomis regia* und *Ornithogalum thyrsoides* sitzen dagegen irgend auf der Mitte der Oberseite und müssen wahrscheinlich als Spaltungsproducte normaler Achselknospen aufgefasst werden, welche passiv durch das wachsende Blatt mitgeführt worden sind. Bei *Ornithogalum scilloides* ist kein Zweifel daran, dass die rückenständigen Knospen der Blätter eigentlich Achselproducte von tiefer gestellten Blättern sind, und nur durch Verklebung und nachträgliche Verschiebung an ihre so ungewohnten Stellen gelangen. Aehnliches findet man bei manchen anderen Monocotylen. Bei *Hyacinthus Pouzolsii* werden selbst auf beiden Blattseiten Knospen gefunden. Bei den zuletzt genannten Arten sind die Knospen unzweifelhaft schon als Anlagen da, wenn die Blätter selbst noch im Meristemzustand verkehren, man kann desshalb nicht behaupten, dass die Organisation des fertigen Blattes auf die Knospenentwicklung Einfluss ausgeübt hat. Für *Malaxis, Curculigo* und *Drimia* ist es schwieriger, die Zeit der Anlage der Knospen zu beurtheilen, auch hier ist es jedoch wahrscheinlich, dass sie sehr frühzeitig entstehen, und dieses mag ebenfalls gelten für die Knospen von *Hyacinthus orientalis,* welche man bei frühzeitig geschädigten Zwiebeln an den Rändern der Zwiebelschalen findet, und welche daran in basipetaler Reihenfolge entstehen.

Bilden sich die Knospen aus der Basis abgeschnittener Blätter, und namentlich, wie bei den Monocotylen Regel, in der unmittelbaren Nähe der Wundfläche aus der Ober- oder Unterseite des Blattes, so kann hier natürlich von einer embryonalen

---

[1]) Buds out of place, *Gardener's Chronicle,* 21 Febr. 1885, p. 249. Für die übrige Literatur vergl. man meinen Aufsatz in *Nederl. Kruidk. Archief* 1882, pag. 438.

Meristemgruppe, welche in Folge der Verwundung zur Ausbildung gelangt, nicht die Rede sein; ganz sicher können erwachsene Zellen sich hier an der Knospenbildung betheiligen. Es ist merkwürdig, wie constant die Epidermis dabei in Betracht kommt, was auch bei den Farnen und Dicotylen gesehen wird, so dass man Grund hat, die knospenbildende Kraft als besonders in der Epidermis rege zu betrachten. Wenn man annimmt, dass Reize, durch den Wasserstrom ausgeübt, die Knospenbildung veranlassen, so kann die genannte Erscheinung wenig befremden, denn die Epidermis ist das Hauptorgan der Transpirationen, besitzt unzweifelhaft besondere Einrichtungen, um diese zu regulieren und die Strömungen, welche darin durch Verwundungen entstehen, dürften vielleicht als die geeignetsten Reize betrachtet werden, auf welche die Pflanze mit der Bildung neuer Transpirationsorgane reagiren kann. Ausgezeichnete Objecte zur Beobachtung solcher Knospen sind die Zwiebelschalen und Zwiebelschuppen von verschiedenen Liliaceen und Amaryllideen wie *Hyacinthus orientalis, Lilium tigrinum, L. candidum, Fritillaria imperialis,* ferner die grünen Blätter der Hyacinthe und die Blätter von *Aloë.* In Bezug auf die Reproduction von *Lilium tigrinum* habe ich in 1881 Folgendes niedergeschrieben. Nachdem die Zwiebelschuppen im Herbst von den Zwiebeln abgeschnitten werden, müssen dieselben während längerer Zeit in feuchtem Sande aufbewahrt werden, bevor die Bildung der Knospen beginnt; oft sieht man dabei die Spitze der Schuppe vertrocknen, oft ist dieses auch nicht der Fall, was aber gleichgültig ist für das Gelingen des Versuches. Es verdient der Bemerkung, dass die Stelle, wo die Knospe entsteht, eben die Basis der Schuppe ist, das heisst die Stelle, wo diese Schuppe, welche bekanntlich einen centripetalen Entwicklungsgang durchläuft, am jüngsten ist. Offenbar ist es auch diese Basis, wohin sich der Stoffstrom der Schuppe, welche sich zu entleeren sucht, damit aber nicht fertigkommt in Folge der Trennung von der Mutterpflanze, gerichtet ist. Eine ähnliche Erscheinung wird in anderen Fällen beobachtet, z. B. bei einer keimenden Kartoffelknospe, wobei auch die »Krone«, welche das jüngste ist und am letzten vertrocknet, für die Knospenentwicklung sich als das geeignetste ergiebt.

Die Knospe an der abgeschnittenen Schuppe von *Lilium tigrinum* sitzt auf der Oberseite dicht neben dem Rand und nur sehr wenig oberhalb der basalen Wundfläche. Bei der mikroskopischen Untersuchung findet man, dass eine ganze Zellgruppe sich an der Bildung derselben betheiligt, und dass zu dieser Zellgruppe mehrere Epidermiszellen gehören. Dieser multizellulare Ursprung der Knospen ist eine sehr allgemeine Erscheinung; sie wird wiedergefunden bei den Knospen auf den Hyacinthenblättern, auf den Blättern von *Cardamine* und *Nasturtium,* bei sehr vielen Wurzelknospen und in zahlreichen Fällen, möglicherweise immer bei den gewöhnlichen Achselknospen. Ungefähr zur nämlichen Zeit wie die Knospe entsteht, dieser genau gegenüber, aus dem Perizikel der Zwiebelschuppe und zwar dort, wo dieser dem Phloëm der Gefässbündel, welche sich unterhalb der Knospe befinden, angrenzt, eine Adventivwurzel, welche bald durch eine zweite und dritte gefolgt wird. Diese Wurzeln kommen aus der Unterseite der Zwiebelschuppen nach aussen und durchbohren dabei eine dicke Gewebeschicht derselben, welche als eine Coleorhiza an der Wurzelbasis bemerkbar wird. Sie leben nur kurz, bald fängt die Adventivknospe selbst an Nebenwurzeln zu erzeugen, sich dadurch zu einem selbständigen Individuum erhebend. Was mir in diesem Falle besonders interessant vorkommt, ist der Einfluss, welchen die entstehenden Knospen und Wurzeln auf ihre gegenseitige Entwick-

lung ausüben, während die Gewebe, welche bei diesen beiden Processen in Anspruch genommen werden, nicht einmal unmittelbar an einander grenzen, sondern durch mehrere erwachsene Zellen getrennt sind.

Bei der Vermehrung der Hyacinthen vermittelst ihrer Zwiebelschalen entstehen die Adventivknospen auf eine ganz ähnliche Weise wie bei *Lilium*, mit dem Unterschiede, dass sie sich aus der Rückenseite der Schale unmittelbar oberhalb der Schnittfläche bilden, und dass ihnen gegenüber keine Wurzeln aus den Zwiebelschalen entspringen. Dagegen bilden die Knospen selbst aus ihrer Basis sehr frühzeitig Nebenwurzeln. Magnus[1]) zeigte, dass grüne Hyacinthenblätter, als Stecklinge gepflanzt, eine Reihe von Knospen auf der Oberseite neben dem Rande der Wunde erzeugen, Wurzelbildung erwähnt er dabei nicht. Wakker[2]) scheint dagegen sowohl Knospen- als Wurzelbildung aus den Zwiebelschalen von *Fritillaria imperialis* beobachtet zu haben; in Bezug auf die Wurzelbildung sind seine Angaben aber nicht klar.

In dem einzigen Falle also, wo sich die Sache zureichend beurtheilen lässt, nämlich bei *Lilium triginum*, ist ein unverkennbarer Zusammenhang da zwischen den Entstehungsörtern der Knospen und der Wurzeln aus dem Blattorgane. Zwar sterben diese Wurzeln, wie gesagt frühzeitig und werden durch Nebenwurzeln, welche aus der Basis der Knospe entstehen, ersetzt.

KAPITEL II.

Populus alba und Rumex Acetosella — Knospen- und Wurzelstellung der Amentaceen, Urticinen und Centrospermen.

Indem ich nun zur Beschreibung einiger typischen Fälle von Wurzelknospen bei den Dicotylen übergehe, wünsche ich daran jedesmal eine kurze Uebersicht der Pflanzenarten aus den nächstverwandten Familien zu knüpfen, bei welchen diese Knospen ebenfalls gefunden worden sind. Ich kann dabei nicht auf Vollständigkeit Anspruch machen, denn die Sache ist überhaupt nur sehr wenig von Botanikern untersucht, ferner glaube ich, dass sich in der gärtnerischen Litteratur noch manche Angaben finden werden, welche mir unbekannt geblieben sind; ich muss jedoch hervorheben, dass ich in mehr als dreissig durchsuchten Jahrgängen von »*The Gardener's Chronicle*« kaum Erhebliches gefunden habe, und ebenso war es mit willkürlich gewählten Bänden anderer ähnlichen Zeitschriften, welche ich aufgeschlagen habe. Gute Listen von Wurzelknospen tragenden Pflanzen haben Warming[3]), Neumann[4]) und Irmisch[5]) gegeben, und ich werde fernerhin oft davon Gebrauch machen. Die ausführlichste Besprechung des Gegenstandes findet sich in

[1]) *Abh. d. bot. Ver. d. Prov. Brandenburg* 1873, 30. Mai; *Bot. Zeit.* 1878, pag. 765.

[2]) Adventieve knoppen, pag. 38, Haarlem 1885.

[3]) Bidrag, etc., *Botan. Tidskr.* R. 3. Bd. 2, 1877, pag. 52.

[4]) Kunst der Pflanzenvermehrung (aus dem Französischen), 4. Aufl., Weimar 1877.

[5]) *Bot. Zeit.* 1857, pag. 433.

einem kurzen aber inhaltreichen Aufsatz von Wittrock[1]), welchen ich erst, als diese Abhandlung schon längst fertig war, durch die Freundlichkeit des Verfassers kennen lernte. Mehrere von Reichhardt genannte Pflanzen citire ich nicht, weil die Angaben dieses Autors mir unsicher erscheinen. Da man in der Litteratur über die Knospenbildung aus Wurzeln nur sehr oberflächliche Beschreibungen findet, war es in vielen Fällen, wenn ich selbst keine Untersuchung anstellen konnte, nicht möglich zu entscheiden, ob die Angaben sich auf Callusknospen oder auf normale Wurzelknospen beziehen. Mit Hinsicht auf die grosse Neigung der Dicotylenwurzeln zur Bildung von Callusknospen, werden sich wahrscheinlich nicht wenige der unten angeführten Knospen als zu dieser Categorie gehörig erweisen, so dass dieselben dann natürlich nicht zu den normalen Wurzelknospen in dem von mir gegebenen Sinne gerechnet werden können.

In mehreren der zu besprechenden Fälle werde ich den mit dem soeben genannten ganz analogen Reproductionsvorgang, nämlich die Nebenwurzelbildung aus Stengeln, kurz besprechen, um dadurch zu zeigen, wie oft die Knospen die Entwicklung der Wurzeln in ihrer unmittelbaren Nachbarschaft fördern, also das reciproke Verhältnis der Begünstigung der Knospenbildung durch die nächst benachbarten Wurzeln. Viele werthvolle Angaben über Nebenwurzelstellung findet man in einer Arbeit von D. Clos niedergelegt[2]), worin der Verfasser sieben Monocotylen und sechsundsechzig Dicotylenfamilien gesondert betrachtet. Oft werde ich seine Beispiele, wozu ich in den meisten Fällen mehrere hätte zufügen können, benutzen.

§ 1. *Cupuliferen, Myricaceen und Urticaceen.*

Unter den *Cupuliferen* wird bei *Corylus Avellana, C. tubulosa, Alnus incana* und nach Hartig auch bei *Alnus glutinosa,* ferner bei *Castanea americana* und *C. pulima* das Vorkommen von Wurzelknospen angegeben. Im Allgemeinen ist aber die vegetative Reproductionsfähigkeit in dieser Familie gering, was besonders daraus erhellt, dass selbst die Callusknospen hier selten sind, von den Eichen und Buchen z. B. ist dieses wohl bekannt. Die erwachsenen Wurzeln und Zweige dieser Bäume treiben auch nicht leicht neue Wurzeln, sodass Stecklingsversuche damit entweder unmöglich oder doch sehr schwierig sind. Callusknospen bilden sich viel leichter an den abgehauenen Stöcken, wie an Wurzel- oder Stammwunden; einzelne Male habe ich solche Knospen in schöner Ausbildung auf fruchtbarem Boden gefunden, und es ist merkwürdig, dass die Blätter solcher seltenen Adventivsprossungen gewöhnlich sehr eigenthümlich gestaltet sind, die der Eichen sind anfangs ganzrändig, die der Buchen tief gebuchtet. An den unterirdischen, sich aus normalen Stammknospen entwickelnden Eichenlohden bilden sich einzelne Adventivwurzeln, über deren Stellung mir nur sehr wenig bekannt ist. Bei Erlen, Haselnüssen, Birken und Kastanien habe ich oft nach Callusknospen gesucht, dieselben jedoch niemals gefunden, sodass ich glaube, dass sie hier überhaupt in der freien Natur fehlen. Auch

[1]) V. B. Wittrock, Ueber Wurzelsprosse bei krautartigen Gewächsen, mit besonderer Rücksicht auf ihre biologische Bedeutung. *Bot. Centralblatt* 1884, Bd. 17. (Vortrag in der Bot. Ges. zu Stockholm, 21. Nov. 1883).

[2]) Des racines caulinaires, *Mémoires de l'Acad. des Sc. de Toulouse.* Sér. 8, T. 5, II, pg. 222, 1883.

die Neigung zur Nebenwurzelbildung ist bei diesen Pflanzen gering und die Stellungsverhältnisse dabei sind mir gänzlich unbekannt.

Keine Familie ist so geeignet wie die der Cupuliferen, um den vielfach ausgesprochenen Satz, dass Pflanzen mit leichtem und sanftem Holz immer sehr geeignet sind zur Bildung von Callus und Callusknospen, während diejenigen Arten mit schwerem und hartem Holz diese Fähigkeit nicht besitzen sollen, zu widerlegen, denn jedenfalls eignen sich die Eichen und Buchen besser zur Bildung von Callusknospen wie die Erlen und Birken.

Als Wurzelknospen erzeugende *Myricaceen* werden angegeben *Myrica gale, M. cerifera* und *Comptonia asplenifolia*, wo sie jedoch nur selten gefunden werden. Unter den *Urticaceen* habe ich die folgenden Arten erwähnt gefunden: *Broussonetia papyrifera. Saportea pustulata*[1]*, Ficus Carica, F. Fontanesii, Cecropia peltata, Morus alba, M. nigra, Maclura. Ulmus campestris* und *U. effusa.*

Maclura wurde von Trécul[2]) genauer untersucht, und er beschreibt dabei nur Callusknospen; ich selbst habe ebenfalls Stecklingsversuche mit *Maclura aurantiaca*-Wurzeln ausgeführt und auch keine anderen wie Callusknospen gefunden. Bei *Ulmus campestris* finden sich dagegen sicher echte laterale Wurzelknospen, Näheres konnte ich darüber aber nicht ermitteln.

Die Nebenwurzeln der unterirdischen Sprosse von *Urtica dioica* und *Humulus Lupulus* sitzen in vier Reihen, welche denjenigen der Stipeln entsprechen; in den Achseln der Letzteren sind die Nebenwurzeln besonders kräftig entwickelt, woraus man schliessen muss, dass die Seitenknospen die Wurzelbildung fördern. Aehnliche Verhältnisse beschreibt Clos für einige andere *Urticaceen*. Welcher aber der eigentliche Typus für die Nebenwurzelbildung in dieser Familie ist, lässt sich noch nicht angeben; gewöhnlich scheinen die Wurzeln zwar nodal zu sein, bei manchen Arten sind sie jedoch internodial gestellt.

§ 2. *Salicineen.*

Aus dieser Familie habe ich die Knospenerzeugung bei verschiedenen Pappeln genau untersucht, ich will mit der Beschreibung davon anfangen. Grabt man eine Wurzel von *Populus alba* vorsichtig aus, so ergibt sich, dass daran drei verschiedene Zweigformen vorkommen. Man findet nämlich erstens Wurzeln mit begrenztem Wachsthum, welche 1—3 dM. lang werden (*rm* Fig. 2, Taf. I), dieselben endigen in einer verjüngten Spitze, in deren Nähe, ziemlich dicht beisammen, 3 bis 7 Seitenwurzeln (*rl*) entspringen, welche der Mutterwurzel ähnlich sind; alle diese Wurzeln besitzen Dickenwachsthum und können Gerüstwurzeln genannt werden, später bilden dieselben eine Art Sympodium, da ihre verjüngte Spitze nicht weiter in die Länge wächst. Gewöhnlich kommen nur einzelne Seitenwurzeln von jeder Generation zur Entwicklung. Aus ihnen entstehen, als zweite Wurzelform, dünne Seitenzweige, welche zwar stark verholzen, jedoch fadenförmig bleiben und nur wenige cM. lang werden. An dieser zweiten Generation bilden sich die Wurzeln der dritten Form (*rl'*), welche sich dadurch auszeichnen, dass sie nie-

---

[1]) *Bot. Jahresbericht*, 1880, 1. Abth. pag. 112.

[2]) Trécul, *Ann. d. sc. nat. Bot.* Sér. 3, T. 8, 1847, pag. 268.

mals ihre primäre Rinde abwerfen, sehr kurz bleiben und vermittelst des Pilzmycels, womit sie bekleidet sind, die Absorbtion aus dem Boden besorgen.

In dem Querschnitt einer Gerüstwurzel findet man im primären Zustand eine dicke Rinde von ungefähr 20 Zellschichten und im Inneren den kleinzelligen Centralcylinder. Dieser zeigt vier- bis fünf-, seltener sechsstrahligen Bau. Schon sehr bald nachdem das Dickenwachsthum begonnen ist, findet man die kleinen deltoidförmigen primären Holzbündel (*xp* Fig. 4) in Wechsellage mit ebenso vielen secundären Bündeln, welche anfangs aus vollständig durchsichtigem Holze bestehen, das an die zarten Phloëmbündel grenzt. Das Pericambium besteht aus Zellen, welche die Endodermis berühren, und, wie überall anderswo, mit den Zellen der Letzteren alterniren.

Nachdem die primäre Rinde der Gerüstwurzeln abgeworfen und das Dickenwachsthum begonnen ist, sieht man an einigen Stellen, wo sich Seitenwurzeln (*rl* Fig. 3) abzweigen, an der Basis dieser Wurzeln aus der von Stärke strotzenden secundären Rinde der Mutterwurzel (*cs* Fig. 4) sehr eigenthümliche callusartige Wucherungen entstehen; diese wachsen schnell weiter und bilden im Verlaufe jenes oder zweier Jahre corallenartige Massen (*cl*), welche zwei bis vier cM. dick und hoch werden können. In Folge ihrer Entstehung sitzen diese Callusgeschwülste (*cl* Fig. 4) in ebensovielen Reihen wie die Seitenwurzeln und correspondiren natürlich mit den primären Gefässplatten (*xp* Fig. 4) des Centralcylinders. Die Wurzelknospen (*gr* Fig. 3 und Fig. 4) entstehen aus diesen Calluswucherungen und zwar auf eine derartige Weise, dass man bis zu einem gewissen Grade behaupten kann dass der ganze Callus sich in Knospen aufzulösen versucht, wobei die Rindensubstanz desselben Blattscheidennatur annimmt (*cl* Fig. 4) und Vegetationspunkte erzeugt, während das Innere Mark und Gefässbündel hervorbringt. In Folge dieser Umwandlung entstehen die neuen Knospenvegetationspunkte oft so nahe neben einander, dass dieselben verwachsen und anfangs echte fasciirte Zweige erzeugen; später isoliren sich die Meristeme und jeder Zweig wächst dann weiter gesondert fort. Der ganze Vorgang macht den Eindruck, als ob die Substanz, woraus der Callus besteht, mit derjenigen der Knospen sehr nahe verwandt ist; man würde sagen können: der Callus ist eine ungeformte Knospenmasse, ein Thallusgebilde, welches sich allmählich zu gesonderten Knospen individualisiren kann. Dass man aus diesem Callus bei anderem Pflanzen bisweilen anstatt Knospen Wurzeln entstehen sieht, wie ich das z. B. am Unterende von Wurzelscheiben von *Cichorium Intybus* beobachtet habe, muss aus der nahen Verwandtschaft zwischen Knospen und Wurzeln erklärt werden, — eine Verwandtschaft, welche so gross ist, dass die Anlagen der Einen in die der Anderen übergehen können unter dem Einfluss von Umständen, welche eben für die Entwicklung des ungleichnamigen Organes begünstigend sind.

Auf einem Querschnitte (Fig. 4) kann man leicht sehen, dass der Callus (*cl*) unserer Pappel sowohl mit der Seitenwurzel (*rl*) wie mit der secundären Mutterwurzelrinde (*cs*) zusammenhängt. Die primären Gefässplatten der letzteren (*xp*) sind in unmittelbarer Verbindung mit dem Axencylinder (*ax*) der Nebenwurzel, deren Cambiumschicht in diejenige (*cb*) der Mutterwurzel übergeht.

Wurzelknospen, welche unabhängig von Callus wären, habe ich nicht gesehen, dagegen ist es oft nicht möglich, neben dem Callus die Seitenwurzel zu

finden; man hat jedoch allen Grund zur Annahme, dass dieselbe stets da gewesen ist, da der Callus sich niemals ausserhalb der vier, fünf oder sechs Seitenwurzelreihen vorfindet.

Rindenwunden an noch mit der Mutterpflanze verbundenen Wurzeln zeigen sehr wenig Neigung zur Knospenerzeugung.

Bei *Populus italica* (Fig. 5) und *P. tremula*, besonders bei letzterer Art, sind Wurzelknospen bekanntlich sehr allgemein. Dieselben (*gr*) kommen entweder vereinzelt oder in kleinen Gruppen von zwei bis drei genau auf der Basis der Seitenwurzeln (*rl*) vor. Diese letzteren sitzen aber mitten zwischen zwei ziemlich kleinen, quer verlaufenden Calluswucherungen (*cl*), welche ihren Ursprung dem Rindenrisse verdanken, welcher bei der Seitenwurzelbildung entsteht. Ob dieser an Wurzeln so allgemein vorkommende Callus die Knospenerzeugung begünstigt und ob man annehmen kann, dass die Knospen von *P. tremula* und *P. italica* als abgeleitet von den echten Callusknospen von *Populus alba* aufgefasst werden müssen, konnte ich nicht entscheiden. — Vieles scheint zwar für eine solche Auffassung zu sprechen, aber auch Vieles lässt sich dagegen anführen.

Die Pappeln haben grosse Fähigkeit, an den Stöcken abgehauener Stämme Callusknospen zu erzeugen; je niedriger die Wundfläche beim Boden, je leichter die Knospen daran entstehen, und umgekehrt, je höher am Stamme oder an den Zweigen der Schnitt vorkommt, desto weniger Knospen bilden sich aus dem Wundrande desselben. Es scheint mir dieses auf einen Zusammenhang der Knospenbildung mit der Druckkraft der Wurzeln hinzuweisen, und ich sehe in der genannten Abnahme ein Maass zur Beurtheilung der Verminderung der Druckkraft des Stammes mit der Entfernung von den Wurzeln.

In Bezug auf die Weiden habe ich mehrfach angegeben gefunden, dass sie Wurzelknospen erzeugen; an den verschiedensten Standorten habe ich danach gesucht, dieselben jedoch nicht finden können; jedenfalls ist die Befähigung der Weidenwurzeln zur Knospenbildung gering, und dieses gilt auch für die erwachsenen Stämme und Zweige, denn es ist nicht leicht, kräftige Knospengruppen auf dem Callus dieser Theile zu finden; vereinzelte Knospen kommen zwar an den Wunden am Oberende eingepflanzter Setzlinge von *Salix alba* dann und wann zur Ausbildung. Auf die Entwicklung der Adventivknospen aus den sogenannten Knospenkernen werde ich später, am Ende dieser Abhandlung noch zurückkommen.

Die Nebenwurzeln vieler, möglicherweise aller Weidenarten, wie z. B. von *Salia caprea*, *S. alba*, *S. amygdalina*, *S. herbacea*, *S. reticulata*, *S. retusa* und *S. repens* [1]), sitzen stets in der Nachbarschaft der Seitenknospen und zwar gewöhnlich an fünf Stellen, in einem Zirkel mit der Knospe zum Mittelpunkte, derweise, dass beinahe, aber nicht genau, oberhalb der Knospe eine Wurzel vorkommt, ferner beiderseits von der Knospe eine und beiderseits, aber etwas unterhalb der Blattinsertion, die zwei letzten [2]). Professor Hugo de Vries machte mich darauf aufmerksam, dass die genannten Stellen eigentlich eine kurze Verticalreihe von Wurzelanlagen tragen, was aber erst ersichtlich ist, wenn man dicke Weidenzweige zur Wurzelbildung hinstellt.

---

[1]) Andere Arten habe ich in dieser Beziehung nicht untersucht.

[2]) Eine Figur gibt Vochting, *Organbildung*, Th. I, 1878, pag. 24.

Da die Adventivwurzeln der Weiden schon in ganz geringer Entfernung von den Vegetationspunkten bemerkbar sind, obschon dieselben nicht aus dem eigentlichen Meristem entstehen, muss man schliessen, dass ihre Stellung durch diejenige der Seitenknospen bestimmt wird.

§ 3. *Rumex Acetosella. Nebenwurzelstellung bei den Caryophyllaceen.*

Rumex Acetosella ist die einzige mir bekannte Pflanze aus der Gruppe der Centrospermen, welche Wurzelknospen erzeugt. A. Braun scheint der erste Beobachter derselben gewesen zu sein[1]), später sind sie oft genannt, niemals aber noch genau untersucht worden[2]).

Keimpflanzen des kleinen Ampfers findet man weniger leicht als wie man auf Grund der Allgemeinheit dieser Art erwarten möchte, so dass man gezwungen ist, auf eine gewisse sexuelle Reproductionsschwäche dieser diöcischen Pflanze zu schliessen. Inzwischen gelingt es doch, besonders auf sandigen Kartoffeläckern, dann und wann Keimlingen zu begegnen. Diese tragen sofort oberhalb der schmalen Samenlappen eine kleine Rosette von dicht gedrängten länglichen Blättchen, von welchen die unteren etwas breiter, übrigens den Samenlappen ähnlich sind; etwas höher werden sie dreieckig und schliesslich kommen daran die beiden oder eine der basalen Spreitenlappen zur Entwicklung. Aus der Basis der Rosette, oberhalb der Samenlappen, brechen viele Nebenwurzeln nach aussen, deren genaue Stellung ich vergebens zu ermitteln suchte. Das Hypocotyl ist sehr kurz und verliert, eben wie die Wurzeln, sehr frühzeitig die primäre Rinde; echte hypocotylische Knospen fehlen. Die Hauptwurzel entwickelt sich kräftig und sendet horizontal verlaufende Seitenwurzeln aus, welche sehr nahe bei der Oberfläche des Bodens vorkommen. Der innere Bau dieser Wurzeln ist zwar der normale, aber die Zahl der Holz- und Phloëmbündel im Centralcylinder ist verschieden und variirt zwischen zwei und fünf, die gewöhnlichen Zahlen sind zwei und vier. Die primäre Rinde, welche sehr dünn ist und an den zweizähligen Wurzeln aus drei Zellschichten besteht, wird, nur mit Ausnahme der Endodermis, welche an der Peridermbildung teilnimmt, auch von den Seitenwurzeln frühzeitig gänzlich abgeworfen oder klebt dem Centralcylinder lange Zeit als dünnes braunes Häutchen im abgestorbenen Zustande an.

Schon die Hauptwurzel erzeugt bei vielen Keimpflanzen einige Knospen, welche in den Oberachseln der Seitenwurzeln sitzen und sich desshalb in Bezug auf diese Wurzeln gerade so verhalten, wie gewöhnliche Seitenknospen zu ihren Tragblättern. Bezüglich der Wachsthumsrichtung des ganzen Organes haben diese Knospen natürlich den entgegengesetzten Stand zur Seitenwurzel, wie die Stengelknospen zu ihrem Blatte. Da diese Regel, wie wir sehen werden, bei vielen Pflanzen mit Wurzelknospen zurückkehrt, halte ich dieselbe für nicht unwichtig.

Die Seitenwurzeln und die älteren Nebenwurzeln sind viel reicher an Knospen wie die Hauptwurzel. Ehe wir deren Entstehung und Stellung betrachten, mögen einige Bemerkungen über die normale Wurzelverzweigung vorausgehen.

[1]) *Verjüngung*, pag. 22, 1849.

[2]) Wie ich später gelesen habe, fand Wittrock (l. c.) normale Wurzelknospen auf den Wurzeln von *Rumex sanguineus*, wo dieselben sich bilden in Folge der Entfernung der oberirdischen Theile.

In Fig. 6 Taf. I sieht man die Spitze einer kräftigen zweizeiligen Seitenwurzel: dieselbe ist so dünn wie ein Faden. Die primäre Rinde (*cp*) bekleidet das Ganze nicht mehr, sondern ist bei *cs*, wo man die secundäre Rinde schon sieht, abgeworfen. Eine merkwürdige, jedoch auch bei anderen Dicotylen verbreitete Eigenschaft unserer Pflanze besteht darin, dass die Seitenwurzeln entweder vereinzelt, oder in kurzen Reihen von zwei (rl^1 und rl_1) oder drei Stück (rl_1, rl^1 und rl_1) hinter einander gestellt sind. In diesen kurzen Reihen sind die Seitenwurzeln alle von der ersten Ordnung, da jede sich nur ausschliesslich aus dem Gewebe der Mutterwurzel bildet. Die Tiefe, in welcher sie aus der Letzteren entstehen, kann aber verschieden sein, und immer müssen die jüngsten Glieder der kleinen Gruppen einige Zellschichten der secundären Rinde der Mutterwurzel, also das Periderm, zerreissen, um nach aussen zu kommen, während die älteste Wurzel sich in gewohnter Weise aus der Oberfläche des Centralcylinders entwickelt hat und desshalb nur die primäre Rinde durchbohren musste. In den zweizähligen Gruppen sitzt die älteste Wurzel (rl^1) gewöhnlich von der fortwachsenden Spitze des Mutterorganes abgekehrt, die jüngere Wurzel (rl_1) desshalb in ihrer »Unterachsel«, bei Dreizahl sitzt Erstere (rl^1) in der Mitte und die zuerst entstandene der beiden jüngeren Wurzeln (rl_1) dem Vegetationspunkte der Mutterwurzel zugekehrt.

Die Knospenerzeugung wird von diesen Wurzeln unter augenscheinlich durchaus normalen Verhältnissen vollzogen, obschon dieselbe unzweifelhaft durch Zerschneiden der Wurzeln, so wie durch bestimmte andere Verwundungen gefördert wird. Die Knospen besitzen eine durchaus constante Stellung, welche sich an den jungen fadendünnen Wurzeln (*gr* Fig. 7) unmittelbar feststellen lässt, bei den älteren, durch secundäres Wachsthum veränderten (*gr* Fig. 11), dagegen erst bei einer mikroskopischen Untersuchung beobachtet werden kann. Jedenfalls findet man, dass die Knospe unmittelbar neben einer Seitenwurzel sitzt, und eine jüngere Wurzel in den oben betrachteten Wurzelgruppen ersetzt. Desshalb kann es vorkommen, und dieses ist der gewöhnliche Fall, dass die Knospe allein steht in der »Oberachsel« der Seitenwurzel (*rl* Fig. 7), also von der fortwachsenden Spitze der Mutterwurzel abgekehrt, oder seltener in der »Unterachsel« der Seitenwurzel. Und ferner, was zwar weniger allgemein ist, jedoch durchaus nicht selten genannt werden kann, können zwei Knospen zu gleicher Zeit, die eine oben, die andere unten und neben der Seitenwurzelbasis vorkommen; bisweilen findet man daselbst eine Dreizahl von Knospen, welche auch dann immer in einer Längsreihe angeordnet sind. Jede dieser Knospen ersetzt offenbar eine Seitenwurzel nachträglicher Entstehung, und in Uebereinstimmung damit muss sie eine dünne Peridermschicht zerreissen, um nach aussen zu kommen; sie ist also später entstanden wie die Seitenwurzel, neben welcher sie sich befindet, nicht wie diese aus dem primären Pericambium der Mutterwurzel hervorgegangen, und muss bei ihrer Bildung offenbar durch diese Seitenwurzel ihrer unmittelbaren Nachbarschaft beeinflusst werden. Kommen die Knospen nicht sofort nach ihrer Entstehung zur Entfaltung, so veranlasst das Dickenwachsthum der Mutterwurzel, dass sie ziemlich tief im Innern der Letzteren begraben werden (*gr* Fig. 11), denn die Peridermschicht (*pd*) wächst vermittelst eines Meristemes, welches ausserhalb der Knospe liegt. In solchen dicken Wurzeln kann man aber noch immer leicht den Zusam-

menhang der Knospen mit den primären Markstrahlen, so wie den Uebergang des Cambiums *(cb)* und des secundären Holzes *(xs)* der Wurzel in die gleichnamigen Theile der Knospe beobachten. Für solche Untersuchungen müssen die stärkereichen Präparate zuvor auf irgend eine Weise durchsichtig gemacht werden; bei der Behandlung mit Kali entsteht dabei die bekannte schöne rothbraune Färbung. — Die anfängliche Blattstellung der Wurzelknospen ist immer die nämliche: das erste Blatt, welches ein farbloses Niederblatt ist, ist mit seinem Rückennerven der Seitenwurzel zugekehrt, und auch hieraus ergibt sich der Einfluss dieser Seitenwurzel auf den Vorgang der Knospenbildung. Das zweite Blatt, das zwar auch noch ein Niederblatt sein kann, jedoch gewöhnlich grün ist, ist höher inserirt und dem Ersteren gegenübergestellt. Diese und die nächstfolgenden Blätter bilden eine Rosette (Fig. 7), derjenigen der Keimpflanze nicht unähnlich; bald brechen aus der Basis derselben Adventivwurzeln *(ra* Fig. 7) nach aussen.

An Wurzelstücken, welche zu einer geeigneten Zeit unter günstigen Wachsthumsbedingungen gebracht wurden, habe ich im Mai und Juni 1882 sehr eigenthümliche Veränderungen von Knospenanlagen in Wurzeln beobachtet, welche ich nun beschreiben will.

In den Figuren 8, 9 und 10 sieht man solche Uebergangsbildungen dargestellt. Ich fand dieselben in der Nähe der Wundflächen, welche dem abgeschnittenen Vegetationspunkt der Mutterwurzel (*rm* Fig. 8) am nächsten waren, und es war offenbar diese eigenthümliche Stellung am Unterende, welche die Wurzelerzeugung derweise begünstigt hatte, dass schon vorhandene Knospen eine so eigenthümliche Rückbildung erfahren konnten. Dass die neugebildeten Wurzeln (rl_1 Fig. 8) wirklich aus Knospen entstanden waren, ging schon daraus hervor, dass sie an ihrer Basis ein oder zwei Blättchen trugen (*vb* und f^1), wovon das Eine der älteren Seitenwurzel (rl^1) zugekehrt war. Besser noch als durch die äussere Betrachtung liess sich der Sachverhalt durch Längs- und Querschnitte feststellen. In einem Längsschnitt eines Uebergangsgebildes (rl_1 Fig. 9) war es leicht, Wurzelmütze (*wm*) und Wurzelhaare am Unterende und ein Vorblatt (*vb*), welches der älteren Seitenwurzel (rl^1) zugewendet war, am Oberende zu beobachten, und zu sehen, dass bei der ersten Entstehung der Mittelbildung, eben wie bei der gewöhnlichen Entfaltung einer späteren Seitenwurzel oder einer Knospe, die secundäre Rinde (*cs*) aufgerissen war. In den successiven Querschnitten (*a, b, c, d, e*, Fig. 10) war die Grenze des Centralcylinders [1]) von oben bis unten sehr deutlich zu verfolgen, Letzterer hatte nahe der Spitze den gewöhnlichen biradialen Bau, nahe der Mutterwurzel hatten die beiden Gefässplatten sich von einander entfernt und, in Folge einer Drehung, ihre breiten Seiten einander zugekehrt, wodurch eine Markmasse entstanden war; die Uebergangsstelle der Blattspur in den Centralcylinder war tief unten gelegen.

Resumiren wir kurz die bei *Rumex Acetosella* gefundenen Verhältnisse, so ergibt sich als Hauptresultat, dass die Wurzelknospen hier aus Seitenwurzelanlagen entstehen, und daß die jungen Knospenanlagen wieder in Wurzeln zurückverwandelt werden können durch Einflüsse, welche die Wurzelbildung begünstigen, wie

[1]) Die Rumexstengel eignen sich besonders gut zur Demonstration des Centralcylinders.

z. B. die Stellung am Unterende von Wurzelstücken, welche aus sprossenden Wurzeln ausgeschnitten sind.

Da die Stengel von *Rumex Acetosella* mit verlängerten Internodien keine Wurzeln erzeugen, und die Stellung der Nebenwurzeln, welche aus den Blätterrosetten entstehen, wie schon früher erwähnt, sehr schwierig festzustellen ist, vermag ich nicht anzugeben, ob die Seitenknospen einen Einfluss auf die Entstehung der Wurzeln ausüben; allein soviel steht fest, dass hier, wie überall anders, die Knospen bei ihrer Entfaltung an ihrer Basis sehr ausgiebig Wurzeln produziren.

Bei anderen Polygoneen ist die nodale Stellung der Nebenwurzeln ziemlich allgemein. Bei *Polygonum Persicaria* sitzen die Wurzeln etwas unterhalb der Blattinsertion in zwei kleinen, 3—4 zähligen Querreihen rechts und links von der Knospe, die Glieder dieser Reihen werden desto mächtiger, je näher sie sich bei der Knospe befinden. Bei anderen Arten durchbohren die Wurzeln den Blattgrund, was auf einen supra-nodalen Ursprung hinweist, bei den zierlichen Muehlenbeckien geschieht dieses genau unterhalb der Knospen, sodass die Adventivwurzeln hier eher als Producte der Seitenknospen wie des Mutterstengels aufgefasst werden müssen.

In der verwandten Familie der Caryophyllaceen ist es Regel, die Nebenwurzeln unmittelbar neben den Seitenknospen zu finden, sei es in deren Achseln, wie bei *Stellaria Holostea* und *Saponaria officinalis*, oder seitlich zu denselben gestellt, wie bei *Stellaria media*, *Gypsophila* und *Cerastium*, oder unterhalb der Knospe, wie es ebenfalls bei *Gypsophila* vorkommt. Die anatomischen Präparate der Verbindungsstellen der Nebenwurzeln mit den Seitenknospen sind bei diesen Pflanzen sehr interessant. *Malachium aquaticum*, welches auf jedem Knoten 5 Nebenwurzeln erzeugt, die eben so genau in der Zweigachsel sitzen wie der Zweig in der Achsel des Blattes, ist bei seinem grosszelligen Bau besonders für die Untersuchung zu empfehlen.

KAPITEL III.

Anemone sylvestris — Brassica oleracea — Nasturtium sylvestre — Alliaria officinalis — Cochlearia Armoracia — Knospenerzeugende Blätter bei Cruciferen.

§ 1. *Anemone sylvestris.*

Es gibt wenige Pflanzen mit Wurzelknospen, bei welchen eine so grosse Mannigfaltigkeit in der Stellung der Letzteren vorkommt, wie bei dieser Art (*a*, *b*, *c*, *d*, *e*, *f*, *g* Fig. 12 Taf. I); das Einzige, was allen diesen Knospen stets gemeinsam ist, besteht darin, dass sie sich niemals ausserhalb der Reihen der zweizeilig angeordneten Seitenwurzeln befinden. Uebrigens gehören dieselben zu zwei Categorien, nämlich erstens zu einer solchen, bei welcher sie sich auf der Basis einer Seitenwurzel befinden und zweitens zu einer, bei welcher sie die Stelle einer Seitenwurzel einnehmen. Da es nun vorkommen kann, dass die Seitenwurzeln

entweder allein stehen, oder auf eine ähnliche Weise wie bei *Rumex Acetosella* zu zweigliedrigen Reihen (*rl*[1] und *rl*[2] Fig. 12) vereinigt, findet man auch diejenigen Knospen, welche eine Seitenwurzel ersetzen, entweder gesondert oder in den Nebenwurzelachseln gestellt.

Wie bei den meisten krautartigen Ranunculaceen, verlieren auch die Wurzeln von *Anemone sylvestris* ihre primäre Rinde (*cp* Fig. 13 Taf. II) niemals, oder doch erst sehr spät, was unzweifelhaft mit dem ausserordentlich geringen Dickenzuwachs dieser Wurzeln zusammenhängt. Da die Wurzelknospen, ähnlich wie die Seitenwurzeln, aus dem Pericambium des Centralcylinders entstehen (*gr*[1] Fig. 13 Taf. II), müssen dieselben später, um nach aussen zu kommen, die primäre Rinde zerreissen (*gr* Fig. 13). Nur die Endodermis scheint an der Knospenbildung betheiligt zu sein, nicht die übrigen Schichten der primären Rinde, worin sich aber überall Theilungswände nachweisen lassen.

Der Centralcylinder der Wurzel von *Anemone Sylvestris* ist grosszellig, er ist bekleidet mit einer Pericambiumschicht, deren Zellen, wie gewöhnlich, mit den Zellen der Endodermis abwechseln. Die zwei Gefässplatten sind einfach und berühren einander in der Mitte.

Ob die Knospen, wie für die Seitenwurzeln erster Ordnung bei den meisten Pflanzen angenommen wird, in acropetaler Ordnung entstehen, vermochte ich nicht zu entscheiden; sich in einer solchen Reihenfolge entfalten, thun sie sicher nicht, denn ich habe zwischen wohl ausgebildeten Knospen sehr junge Anlagen angetroffen. Solche erste Entwicklungszustände findet man am Leichtesten an den eigenthümlichen, angeschwollenen, braun behaarten Stellen (*bh* Fig. 12), welche an allen Wurzeln von *Anemone Sylvestris* und *A. japonica* gefunden werden, und welche dadurch characterisirt sind, dass die Wurzelhaare dort niemals verschwinden, während der übrige Wurzelkörper allmählig vollständig kahl wird.

Bei *Anemone japonica* fand ich im Allgemeinen ähnliche Verhältnisse wie bei *A. sylvestris*; bei ersterer Art besitzen die Wurzeln jedoch ein kräftigeres Dickenwachsthum und bilden holzige Stämmchen von schwarzer Farbe; solche alte Wurzeln tragen überall Wurzelknospen von sehr verschiedener Ausbildung, welche stets in zwei Reihen angeordnet sind, die mit den beiden breiten primären Markstrahlen correspondiren. Alle diese Knospen sind schon sehr frühzeitig aus den Wurzeln entstanden, und zwar zu einer Zeit, als diese noch ihre primäre Structur besassen. Die meisten gehen für immer in den Ruhezustand über.

Die Wurzelknospen von *Anemone* wurden von Irmisch entdeckt [1]), und er bildet eine Keimpflanze von *Anemone sylvestris* ab, welche viele solche Knospen auf der Hauptwurzel und auf einer Seitenwurzel trägt.

Die anderen mir bekannten Ranunculaceen mit Wurzelknospen sind, ausser der schon genannten *Anemone japonica*, die folgenden: *Aconitum japonicum* [2]) und *Aconitum Lycoctonum*, *Paeonia arborea* und *Xanthorhiza apiifolia* (nach Warming).

Hypocotylische Knospen werden nach Royer [3]) bei *Anemone Pulsatilla* und *Aquilegia vulgaris* gefunden. Bei letzterer Art habe ich jedoch vergebens danach gesucht.

---

[1]) *Bot. Zeit.*, 1851, N°. 21, 1856, pag. 8, Fig. 39, Taf. I.

[2]) De Lanessan, *Bullet. de la Soc. Linn. de Paris*, 1876, 2 Aug.

[3]) Flore de la Côte d'Or, Paris 1881, Vol. I, pag. 71.

In den anverwandten Familien sind Wurzelknospen bekannt bei *Berberis* und *Mahonia*, bei *Menispermum canadense*, bei *Magnolia obovata* und bei *Calycanthus*.

Nebenwurzelstellung bei den Ranunculaceen. Manche Ranunculaceen zeigen einen unzweifelhaften Einfluss der Seitenknospen auf die Nebenwurzelstellung. Für knollenerzeugende Formen wie *Ficaria ranunculoides* ist dieses schon beim ersten Anblick deutlich. Bei *Ranunculus repens* und anderen Arten dieser Gattung findet man eine entschiedene Annäherung der nodalen Wurzeln an die Insertionsstellen der Knospen oder Seitenzweige, obschon es sich nicht widerlegen lässt, dass diese nicht überall deutlich ist. Bei der anatomischen Untersuchung der Knoten von *Ranunculus repens* fand ich eine Gefässbündelverbindung zwischen dem Zentralcylinder der Seitenknospe und demjenigen der Nebenwurzeln, selbst wenn diese mehr als 90° von jener entfernt vorkamen. Bei vielen, möglicherweise allen Clematisarten sind die Adventivwurzeln blattachselständig und gehören, wie man würde sagen können, den Seitenknospen an, womit sie, da sie vereinzelt in den Blattwinkeln stehen, »Pseudo-embryonen« darstellen. Die Thalictren, deren Nebenwurzeln gewöhnlich rings um die Knoten angeordnet sind, zeigen bei der Ansatzstelle ihrer unterirdischen Sprosse eine Wurzelgruppe, welche offenbar unter dem Einfluss dieser Sprosse entstanden ist. Clos bemerkt in Bezug auf *Myosurus minimus*, dass die Zahl der Blüthenstiele übereinstimmt mit derjenigen der Nebenwurzeln der Blattrosette, so dass jeder Zweig seine eigene Wurzel zu besitzen scheint [1]. Bei den von mir untersuchten *Anemonen* konnte ich keine deutliche Regel auffinden; ich zweifle jedoch nicht, dass weitere Beobachtungen noch bei vielen Ranunculaceen den erwähnten Zusammenhang werden aufdecken.

§ 2. *Brassica oleracea.*

Bei den durch Kreuzung entstandenen Kohlvarietäten bemerkt man oft eine sich in verschiedenen Richtungen äussernde, ausserordentlich üppige Reproductionsfähigkeit. Es entstehen nämlich bei diesen Pflanzen, leichter wie bei den unvermischten Racen, erstens, die wohlbekannten eigenthümlichen Blattgewächse und Becher auf der Blattoberseite; zweitens, Markwurzeln aus dem secundären inneren Phloëmring, welcher bei einigen dickstengeligen Sorten (Kuhkohl) sich so oft rings um die durch Gewebezerreissung entstandene innere Markhohlung bildet, und drittens, Wurzelknospen. Die letzteren sah ich zum ersten Male an Wurzeln von ausgerissenen, frei auf dem Acker liegenden rothen Kohlpflanzen, welche durch ihre leichtere Farbe, unvollständige Schliessung und durch ihre Blattform sich von der reinen umherstehenden Sorte als Kreuzungsproducte unterschieden. Später gelang es mir, Wurzelknospen künstlich zu erzeugen bei einer gewöhnlichen Blattkohlvarietät, welche durch Kreuzung zweier nahe verwandter Blattkohlracen entstanden war und von mir während längerer Zeit gezüchtet war, weil dieselbe ausserordentlich schöne Anhangsgebilde auf ihren Blättern erzeugte. Ich hatte diese Pflanzen umgekehrt und schief in fruchtbare Erde eingesetzt, wobei die frei in der Luft ragenden Wurzeln, sich grün färbten und eine ansehnliche Anzahl von Knospen erzeugten. Die Thatsache ist dadurch besonders auffällig,

---

[1] Clos, Racines caulinaires, Sep. pag. 25.

dass die unterirdischen Stengel durchaus keine Neigung zur Wurzelerzeugung besitzen, und überdies die geringe Lebensdauer der Kohlarten kaum Wurzelknospen erwarten lässt.

Wie bei allen übrigen mir bekannten Cruciferen sind die Kohlwurzeln zweistrahlig und tragen zwei Reihen von Seitenwurzeln. In diesen Reihen sind die Letzteren zu kleinen Gruppen von zwei bis vier Stück vereinigt (*rl*, *rl*[1], *rl*[2], Fig. 14 Taf. II), welche scheinbar neben einander aus einem kleinen schmalen, in der Quere gestreckten linsenförmigen Callus (*cl*), welcher der Mutterwurzel aufsitzt, hervorgehen, bei mikroskopischer Untersuchung sich jedoch als eine einzige Seitenwurzel mit zwei oder drei Seitenzweigen erkennen lassen. Ich finde, dass andere fleischige Wurzeln, wie die von *Pastinaca sativa*, *Daucus Carota*, *Tragopogon porrifolius*, *Scorzonera hispanica* und anderen Arten, sich auf die nämliche Weise verzweigen, und zahlreiche Stecklingsversuche mit allerlei Pflanzen haben mich gelehrt, dass die normale Wurzelerzeugung aus anderen Wurzeln beinahe immer nach dieser Regel zustande kommt, das heißt, dass die neuen Seitenwurzeln Verzweigungsproducte schon vorhandener Seitenwurzeln sind, an deren basalem, in der Rinde der Mutterwurzel vergrabenem Ende sie entstehen. Da auch die Seitenwurzeln zweiter Ordnung, für so weit sie innerhalb der Mutterwurzelrinde sitzen, sich ihrerseits wieder verästeln, bilden sich kleine dendritische Zweigsysteme, die aber vollständig mit den Geweben der Mutterwurzel verwachsen sind und erst bei mikroskopischer Untersuchung verständlich werden [1]). Bei den Kohlarten liegen die Verzweigungen, für soweit sie äusserlich sichtbar sind, alle ungefähr in der nämlichen Ebene, welche die Seitenwurzeln ersten Ranges enthält und senkrecht zur Achse der Mutterwurzel gestellt ist (Fig. 14), bei anderen Pflanzenarten ist dies zwar oft, jedoch durchaus nicht überall ebenso. Bei *Brassica* findet man bei genauerer Untersuchung, dass diese Stellung eigentlich secundär, muthmaasslich durch ungleiche Widerstandsfähigkeit der zu durchbohrenden Gewebe bedingt ist, denn die inneren Zweigsysteme tragen ihre Wurzeln auf allen Seiten. Viele der kleinen Seitenzweigchen brechen erst bei Verwundung oder nach Entfernung der Spitze aus der Wurzel hervor, sie sind es ebenfalls, aus welchen bei den Kohlpflanzen Wurzelknospen entstehen können, obschon diese letzteren hier mehrenteils echte Callusknospen sind.

Dass die Wurzelknospen, so wohl beim rothen Kohl wie beim Blattkohl, jedenfalls hauptsächlich Erzeugnisse von Lateralcallus sind, geht schon aus der grossen Anzahl derselben, welche auf einem einzelnen Callus sitzen können (*gr* Fig. 15 und Fig. 17), deutlich hervor, und weiter wird dieses dadurch bewiesen, dass eine Gefässbündelverbindung zwischen denselben und dem Holzkörper der Mutterwurzel, in Uebereinstimmung mit der parenchymatischen Natur des Callusgewebes und der exogenen Bildung der Knospen daraus,[2]) anfangs noch nicht besteht. Wie deutlich diese Erscheinungen nun auch bei vielen dieser Knospen

---

[1]) Man vergl. auch O. Bloch, Verzweigung fleischiger Phanerogamenwurzeln, Berlin 1880.

[2]) Callusknospen entstehen beinahe immer exogen, das heisst unmittelbar unterhalb der todten Korkzellen; es gilt dieses so wohl für Wurzel-, wie für Stengel- und Blattcallus. Nur bei *Solanum Dulcamare* entstehen die callusbürtigen normalen lateralen Wurzelknospen tiefer im Callusgewebe.

sein mögen, so gibt es doch Gründe, um auch bei *Brassica* die Callusknospen, wenigstens zum Theile, in nahen Zusammenhang mit Wurzelanlagen zu bringen. Vorerst finden sich auf dem reichlich mit Knospen besetzten Callus zu gleicher Zeit ungewöhnlich viel Wurzelanlagen, welche genau die nämliche Stellung wie die Knospen selbst, also den Rand des Callus, einnehmen und nur etwas tiefer im Innern entstehen; ferner fand ich auf dem Callus und auch auf der Basis der Seitenwurzeln, etwas ausserhalb des Körpers der Mutterwurzel (gr^1 Fig. 15), junge Knospen, welche unterhalb einer Bekleidung, welche ich nur für eine Wurzelmütze (*wm* Fig. 18) halten konnte, anfingen Blattanlagen zu erzeugen (die Figur 18 zeigt ein Stadium, wo die Wurzelmütze im Begriff war, abgeworfen zu werden). Sehr schön sah ich solche Mittelstufen bei rothem Kohl, welcher die Eigenschaft besitzt, dass ihre Knospen roth sind, selbst schon die noch nicht differenzirten Vegetationspunkte, während ihre Wurzelanlagen durchaus farblos sind.

Ich fand die auf der Seitenwurzelbasis vorkommenden Knospen (Fig. 18) nicht immer in den Reihen der Seitenwurzeln der zweiten Ordnung; dieses mag damit zusammenhängen, dass die primäre Structur der von mir untersuchten knospenerzeugenden Seitenwurzeln schon durch Dickenwachsthum verändert war und die Entstehung der Knospen bei *Brassica*, wie wir gesehen haben, nicht unzertrennlich mit der Seitenwurzelbildung zusammenhängt, sondern durch andere Factoren, z. B. die Callusbildung, sehr beeinflusst wird. Immerhin bleibt diese abweichende Stellung jedoch bemerkenswerth, im Vergleich mit der Allgemeinheit der bezeichneten Coincidenz in denjenigen Fällen, worin nicht die Basis, sondern andere Stellen der Seitenwurzeln Knospen tragen.

Wie im Anfang dieses Paragrafen schon bemerkt wurde, steigert die Kreuzung die Fähigkeit der Wurzeln zur Knospenerzeugung. Schöne Beispiele davon sind vor Kurzem durch Lund und Kiaerskow publizirt[1]). Sie führten die folgenden Kreuzungen aus: Gewöhnlicher gelber Rutabaga (*Brassica Napus*) ♀ × Runder weisser Markturnips (*Brassica Rapa*) ♂ oder umgekehrt, und Gewöhnlicher gelber Rutabaga ♀ × Teltauer Rübe (*Br. Rapa*) ♂ oder umgekehrt. In allen diesen Fällen entstanden Bastarde mit einer grossen Zahl von kleinen adventivknospenführenden Knöllchen auf ihren Wurzeln. Im Sommer 1879 cultivirten sie davon 44 Exemplare. Die vielbesprochene Reitenbachsche Wruke von Caspary, ist ein solcher Bastard; Caspary hat dieselbe schon in vier Generationen aus den Knöllchen fortgezüchtet, was merkwürdig ist, wenn man an die zweijährige Lebensdauer von Kohlrübe und Turnips denkt.

Bei der Bastardirung von zwei zu *Brassica Napus* und *Br. Rapa* gehörigen Formen, von welchen nur die eine eine Wurzelknolle besitzt, entstehen Bastarde, welche, etwas seltener wie im vorigen Falle, Beiknöllchen mit Adventivknospen auf ihren Wurzeln erzeugen; im Sommer von 1879 fanden Lund und Kiaerskow diese Gebilde z. B. bei 25 von 32 Exemplaren. Bei den Bastarden zwischen zwei knollenfreien Formen schwillt die Hauptwurzel zwar zu einer Knolle an, darauf sind Knöllchen mit Adventivknospen jedoch sehr selten; die knospenführende Wurzel eines einzelnen Exemplares eines solchen Bastardes zwischen Sommerrüben und

---

[1]) Morfologisk anatomisk Beskrivelse af *Brassica oleracea*, *B. campestris* og *B. Napus* Kopenhagen 1885, pag. 124.

Winterraps findet sich unter den Spirituspraparaten im bot. Museum zu Kopenhagen.

Da die *Napus-Rapa*bastarde alle ziemlich vollkommen steril sind, sowohl bei Kreuzung mit anderen Individuen der nämlichen Form, wie mit Mutter- und Vaterform, kann man die Entstehung der Wurzelknospen in diesem Falle als correlativ mit der Sterilität betrachten.

§ 3. *Nasturtium sylvestre.*

In Bezug auf diese Pflanze bemerkt Irmisch[1]: »Auf fast allen Wurzelverzweigungen, die hier ganz flach unter dem Boden liegen und meistens sehr lang werden, brechen die Adventivknospen hervor, die frühzeitig in Blattrosetten auswachsen, oft sind die Wurzeln ganz überdeckt von solchen Knospen und man findet diese selbst auf den ganz dünnen, kaum einen Zwirnfaden starken Verästelungen der Wurzeln.« Selbst die Hauptwurzel der Keimlinge ist schon reichlich mit Sprossknospen versehen. Irmisch fand in seltenen Fällen Wurzelknospen bei *Nasturtium amphibium*, wo ich dieselben vergebens suchte, und Braun nennt noch in dieser Beziehung *N. pyrenaicum*[2]).

In Uebereinstimmung mit der allgemeinen Cruciferenregel sind die Wurzeln von *Nasturtium* biradial gebaut, und mit zwei Seitenwurzelreihen bedeckt, sie verlieren früh ihre primäre Rinde und erfahren ein kräftiges Dickenwachsthum, wodurch eine dicke, sehr stärkereiche secundäre Rinde entsteht, worin weite Siebgefässe zerstreut liegen. Die Seitenwurzeln besitzen eine ähnliche Stellung wie bei *Brassica*, das heisst sie sind in Gruppen vereinigt, deren primäres Glied sich an die primäre Gefässplatte im Inneren der Mutterwurzel ansetzt, während die anderen, secundären, aus der in der Rinde der Mutterwurzel (*rm* Fig. 19 Taf. II) verborgenen Basis der primären Seitenwurzel entstehen.

Die Stellung der Sprossknospen (*gr* Fig. 19) ist hier sehr eigenthümlich; dieselben gehören zu den Seitenwurzelgruppen und stehen entweder neben oder auf der Basis einer Seitenwurzel, oder zwischen zwei Seitenwurzeln, oder endlich, es findet sich eine Wurzel zwischen zwei Knospen. Auch hier macht das Ganze den Eindruck eines eigenthümlichen, complizirt gebauten Embryo's.

Bei diesen und ähnlichen Pflanzen ist es durchaus nicht leicht, die ersten Entwickelungsphasen der Knospen aufzufinden, was besonders dadurch veranlasst wird, dass sich selbst die jüngsten Anlagen schon in Schlafaugen verwandelen können, und in diesem Zustand so lange verharren, dass sie zuletzt so gut wie unverändert selbst auf sehr alten Wurzeltheilen angetroffen werden. Ich konnte auf successiven Querschnitten die Knospen erst dann finden, wenn die primäre Rinde abgeworfen war, und habe den Eindruck bekommen, dass sie selbst an alten Wurzeln neugebildet werden können aus den Seitenwurzelbasen, welche also als die eigentlichen Reproductionsorgane der Mutterwurzel müssen aufgefasst werden, da sie auch, wie früher bemerkt, die Entstehung der neuen Seitenwurzeln veranlassen.

Die Adventivwurzeln an den Stengeln von *Nasturtium* haben eine sehr merkwürdige Stellung, dieselben sitzen zu kleinen Gruppen vereinigt etwas oberhalb

[1]) Ueber die Dauer einiger Gewächse der deutschen Flora, *Bot. Zeit.*, 1858, pag. 378.
[2]) Verjüngung, pag. 25.

der Seitenknospen, und bei Abwesenheit der Letzteren scheinbar an deren Stelle in den Blattachseln (*r a* Fig. 19). Sie entstehen exogen so, dass ihre Wurzelmütze aus der Epidermis des Stengels gebildet wird. Eine ganz ähnliche Nebenwurzelstellung findet man bei sehr vielen Cruciferen zurück, und für so weit ich diese Sache gegenwärtig übersehen kann, sind bei allen Cruciferen die Wurzeln entweder blattachselständig, oder, wie bei *Nasturtium* zu kleinen Gruppen oberhalb der Knospen eingestellt. Oft, z. B. bei *Iberis* und anderen holzigen Cruciferen scheint eine Wurzel oder eine Wurzelgruppe die Seitenknospe zu ersetzen.

§ 4. *Alliaria officinalis.*

Ich werde diese Pflanze nur sehr kurz besprechen. Als ein- oder zweijähriges Gewächs sind die Wurzelknospen von untergeordneter Bedeutung für die Erhaltung der Species, und dasselbe gilt betreffs der hypocotylischen Knospen (*g r* und *g r'* Fig. 20). Inzwischen besitzen diese Knospen einige morphologische Eigenschaften, welche bemerkenswerth sind. In Bezug auf ihre Stellung bemerkte schon Wydler, welcher die Adventivknospen von *Alliaria* entdeckte: »sie finden sich in Mehrzahl auf der etwas verholzten hypocotylischen Achse und auch ziemlich tief hinab an der Hauptwurzel, häufig bricht dicht unterhalb derselben eine neue Nebenwurzel hervor«[1]).

Eine nähere Untersuchung dieser Knospen (*g r* und *g r'* Fig. 20) zeigt erstens, dass dieselben aus der Oberfläche des Centralcylinders des Mutterorganes, also aus dem Pericambium entstehen, und die primäre Rinde durchbohren müssen, wenn diese noch nicht abgeworfen ist, was freilich sehr frühzeitig geschieht bei der Hauptwurzel, während das Hypocotyl, besonders oben, bei den Samenlappen, diese Rinde (*c p*) lange bewahrt; jedenfalls sitzen die Knospen also auf der secundären Rinde (*c s* Fig. 21 Taf. II obenan in der Mitte). Ferner findet man, dass sie stets in den beiden Nebenwurzelreihen der biradialen Mutterwurzel vorkommen. Am Hypocotyl habe ich keine Seitenwurzeln unter den Knospen gefunden, dagegen öfters an der Hauptwurzel. Gleichgültig ob Letzteres der Fall ist oder nicht, stets sind die zwei ersten Blätter (f^1 und f^2 Fig. 21) nach unten und oben gewendet, so dass man gewissermaassen das erste Blatt morphologisch als das Tragblatt würde betrachten können, während in physiologischer Beziehung eher die Seitenwurzel, in deren Achsel die Knospe sitzt, als das Aequivalent des Tragblattes einer Stengelknospe aufgefasst zu werden verdient.

Ob man diejenigen Knospen, welche nicht zu einer Seitenwurzel gehören, als metamorphosirte Wurzelanlagen betrachten muss, ist schwer zu entscheiden, ich halte es aber für wahrscheinlich.

Die ersten Blätter der Knospen besitzen Niederblattnatur; die Blattspreite derselben bleibt nämlich sehr frühzeitig in der Entwicklung still stehen und nur der Blattgrund gelangt zur weiteren Ausbildung. Es ist eigenthümlich, dass diese Blätter, so wie freilich alle übrigen Blätter dieser Pflanze, kleine früh absterbende Nebenblätter (*st* Fig. 20 und 21) besitzen, welche auf der inneren Scheidenseite festsitzen; ich fand dieselben ebenfalls bei den Nasturtien und sie erinneren an die echten Stipeln der Capparideen.

Es ist mir nicht möglich gewesen, die Adventivwurzelstellung an den Alliaria-

[1]) *Flora*, 1856, N⁰. 3.

stengeln direct zu beobachten. Die für die Cruciferen allgemein gültige Regel führt aber auch hier zum Schlusse, dass diese aus den Achseln der Seitenknospen hervorkommen müssen.

§ 5. *Cochlearia Armoracia.*

Die Wurzeln des Meerrettigs tragen gewöhnlich eine erstaunliche Menge von Knospen, welche über ihrer ganzen Länge in den Reihen der Seitenwurzeln ziemlich regelmässig vertheilt sind. Da die meisten Meerrettige vierstrahlig sind (auch drei- und fünfstrahlige kommen vor, dünne Nebenwurzeln können zweistrahlig sein), müssen die Knospen ebenfalls in vier Reihen vorkommen, das lässt sich aber nicht leicht feststellen, denn diese Reihen sind spiralig um den Wurzelkörper gewunden. Die Knospen (*gr* Fig. 22 Taf. II) sitzen entweder einzeln oder zu kleinen Gruppen (gr^1, gr^2, gr^3 Fig. 23) vereinigt, ohne Ausnahme an der Basis der Seitenwurzeln (*rl*), dort wo diese mit der Oberfläche des Centralcylinders zusammenhängen. An Wurzeln, welche noch ihre primäre Rinde besassen, konnte ich keine Knospen auffinden, jedoch halte ich es nicht für unmöglich, dass die Disposition für deren Bildung schon sehr frühzeitig entsteht. Eine vollständig klare Einsicht in das Verhältniss zwischen den Seitenwurzeln und den Knospen beim normalen Wachstum habe ich mir nicht bilden können, ebenso wenig wie bei *Nasturtium sylvestre*, welches in Bezug auf die Wurzelsprossung durchaus mit *Cochlearia* übereinstimmt. Jedoch glaube ich auch hier wie in so vielen anderen Fällen annehmen zu müssen, dass die ruhenden exogenen Anlagen der Seitenwurzeln zweiter Ordnung, an der in der Rinde der Mutterwurzel vergrabenen Basis der primären Seitenwurzel, bei alten Meerrettigen sich besonders für eine Umwandlung in Knospen eignen. Allein auf diesen Anlagen ist die Entstehung der Knospen sicher nicht beschränkt, wie aus dem folgenden Versuche hervorgeht. Wenn man mit einem scharfen Messer die äussere Rinde eines Meerrettigs vollständig entfernt, sodass die Knospen und die Basen der Seitenwurzeln zweiter und dritter Ordnung mitgehen, wird im Inneren der secundären Rinde der »Seitenwurzelkern«, das heisst das pericambiale Verbindungsgewebe zwischen Mutter- und Seitenwurzel, sichtbar. Wenn man nun solche Stücke als Stecklinge behandelt, so sieht man bald aus den genannten »Kernen« Knospengruppen entstehen (allein niemals neue Seitenwurzeln); aus anderen Stellen der Wurzel sah ich keine Knospe hervortreten, und die Angabe von Irmisch, dass jeder Kubus von nur einem cM. Rippenlänge, welchen man aus einem Meerrettig schneiden kann, fähig ist, eine neue Pflanze zu erzeugen, ist nur dann richtig, wenn sich eben in einem solchen Kubus ein »Seitenwurzelkern« vorfindet. Wenn man die Rinde bis auf eine grössere Tiefe wie 2 oder 3 mM. wegschneidet, so entstehen überhaupt keine Knospen mehr, man hat dann also das gesammte Reproductionsgewebe vernichtet. Diese so scharf localisirte Reproductionsfähigkeit scheint mir eine sehr wichtige und allgemeine Eigenschaft der Pflanzenorgane zu sein; ich habe dieselbe noch bei einigen anderen Wurzeln und überdiess in den Kartoffelknollen, den Zweigen der Weiden und verschiedener Cytisusarten, so wie anderswo, nachweisen können.

Die anatomische Verbindung zwischen der Seitenwurzel und den dazu gehörigen Knospen mit dem Holzkörper der Mutterwurzel kann auf zweierlei verschiedene Weise zustande kommen. Entweder (Fig. 25) findet man ein quer durch die

secundäre Rinde verlaufendes Gefässbündelgeflecht *(g f)*, welches von einer Phloem- oder Procambiumscheide *(p h)* eingeschlossen ist, und woraus sich ein centraler Strang bis auf die primären Xylembündel im Herzen der Mutterwurzel verfolgen lässt, oder (Fig. 26 Taf. II obenan) eine solche Verbindung fehlt gänzlich, sodass Seitenwurzel und Knospe als ein wahres selbständiges Individuum der Mutterwurzel aufsitzen und nur durch parenchymatisches Gewebe vom Holzkörper der Letzteren getrennt sind; das Gefässbündelgeflecht *(g f* Fig. 26) bleibt dann also auf das Seitengebilde allein beschränkt, der »Seitenwurzelkern« fehlt. Dieser letztere Fall lässt sich ungezwungen vergleichen mit dem Verhalten vieler Maserknollen an Baumstämmen, welche oft gänzlich lose in der Rinde sitzen, und dann nicht vermittelst eines »Knospenstammes«, — um T. Hartigs Ausdruck zu gebrauchen[1], — mit dem Holze verbunden sind; die zuerst betrachtete Verbindung stimmt dagegen besser mit derjenigen gewöhnlicher Aeste am Stamme überein. Bei meinen Entrindungsversuchen habe ich leider nicht beobachtet, wie sich die Stellen unterhalb der Seitenproducte ohne Wurzelkerne verhalten, ich denke, dass da keine Reproductionsfähigkeit existirt.

Da selbst die stärksten Knospen (Fig. 25) durchaus keine Veränderung verursachen in der Structur des Seitenwurzelkernes, und noch viel weniger in dem Bau des Holzkörpers der Mutterwurzel, ist es sicher, dass dieselben, wenigstens in anatomischem Sinne, sehr spät entstehen, man würde sagen können erst dann, wenn die Wurzeln durch das Dickenwachsthum Stengelnatur angenommen haben[2].

Diejenige Wurzelknospen, welche zu Blattsprossen auswachsen, erzeugen bald nachdem das Wachsthum darin rege wird, an ihrer Basis ein oder mehr Adventivwurzeln (*r a* Fig. 23), welche sich sowohl durch ihre Stellung wie durch ihre Farbe von den Seitenwurzeln unterscheiden. Die ersten Blätter dieser Knospen besitzen niemals die eigenthümlichen fiederschnittigen Spreiten, welche an den sich eben über die Bodenoberfläche erhebenden Seitenzweigen so auffällig sind und als eine Anpassung unserer Pflanze an das Wasserleben betrachtet werden können. Die Beblätterung beginnt mit einer ganz eigenthümlichen, ungefärbten, sehr niederen Scheide, welche vollkommen den Eindruck macht einer napfförmigen Peridermbildung der Mutterwurzel; auch bei *Nasturtium sylvestre* beginnen die Wurzelknospen auf dieser Weise.

Sobald der Spross durch gesteigertes Wachsthum verlängerte Internodien erzeugt hat, wird es möglich, die Stellung der Adventivwurzeln zu beurtheilen. Diese ist merkwürdig und etwas abweichend vom gewöhnlichen Verhalten bei den Cruciferen, denn während in dieser Familie, wie gesagt, die Nebenwurzeln gewöhnlich in kleinen Gruppen etwas oberhalb der Knospen entstehen, sitzen sie beim Meerrettig (*r a* Fig. 27) in drei- oder viergiedrigen Reihen rechts und links neben der Seitenknospe *(s k)* in der Achsel des Blattes *(b n)*[3].

[1]) Luft-, Boden- und Pflanzenkunde, pag. 153, Stuttgart 1877.

[2]) Die Beschreibung des anatomischen Baues des Meerrettigs muss ich hier übergehen, nur will ich darauf hinweisen, dass derselbe in einigen Punkten sehr merkwürdig ist, wie z. B. durch das Vorkommen zahlreicher Siebbündelchen mitten im secundären Holze.

[3]) In den unterirdischen Blattachseln des Meerrettigs sitzen oft kleine grünliche blumenkohlartige Gebilde, welche aus den Seitenknospen entstehen und leicht ausfallen. Für Brutknospen schienen sie mir zu klein zu sein, ich habe dieselben bisher nicht weiter untersucht.

Die cultivirten Meerrettige erzeugen niemals reife Samen, und da es auch nicht leicht ist, aus dem Freien keimkräftiges Samenmaterial dieser Pflanze zu beziehen, sind die Keimlinge bisher vollständig unbekannt geblieben. Es wäre in mancher Beziehung interessant, solche einmal zu züchten, denn es würden daraus unzweifelhaft Pflanzen mit gut entwickelten Blüthen entstehen, während die cultivirten Exemplare bekanntlich überall rudimentäre Staubfäden besitzen; wahrscheinlich würden solche normale Pflanzen sehr arm an Wurzelknospen sein.

Andere Cruciferen und Resedaceen mit Wurzelknospen. Am Ende dieser Betrachtung specieller Fälle von Wurzelknospen bei Cruciferen will ich die übrigen mir bekannten hierher gehörigen Arten aufzählen, es sind die folgenden: *Nasturtium pyrenaicum, Lepidium latifolium, L. graminifolium, L. Draba, Isatis tinctoria* und *Arabis sagittata.* Bei *Bunias orientalis* und bei *Crambe maritima* fand ich keine normale laterale Wurzelknospen, dagegen bilden sich aus dem Oberende von Wurzelstücken dieser Pflanzen ausserordentlich leicht viele schöne Callusknospen.

Die Wurzelknospen von *Reseda lutea* sitzen vereinzelt in den Achseln der zweizeilig angeordneten Seitenwurzeln, oder in kleinen Gruppen von 2 bis 4 Stück rings um deren Basis. Oft brechen sie aus dem Seitencallus in geringer Entfernung von den Seitenwurzeln nach aussen. Uebrigens verhalten sie sich wie bei *Nasturtium.*

§ 6. *Knospenerzeugende Blätter bei Cruciferen.*

Die merkwürdigen Erscheinungen, welche an den Blättern von *Cardamine pratensis* auftreten, sind oft beschrieben, zuerst im Jahre 1816 von Cassini[1], später auf's Neue durch Münter[2], nachdem Schleiden darüber Zweifel ausgesprochen hatte, vor Kurzem wieder durch Vöchting[3], welcher darin eine Stütze für seine Hypothese der inneren, von Spitze und Basis der Organe abhängigen Kraft findet.

Die niedersten, dem Boden angedrückten, bisweilen aber auch die höheren gefiederten Blätter unserer Pflanze erzeugen auf der Blattspindel, den Stielchen der Fiederblättchen und auf den dicken Nerven der Letzteren kleine Knötchen, welche erst ein oder mehrere Wurzeln, dann ein Blättchen, endlich einen Vegetationskegel bilden und sich dann allmählich in eine Blattrosette verändern. Bei *Cardamine hirsuta* und *C. impatiens*[4]) hat man die nämliche Erscheinung bemerkt.

In Folge ungünstiger Lebensverhältnisse, besonders durch Lichtmangel gelingt es leicht, die Inflorescenzen von *Cardamine* zu töten, ohne dass die Pflanze dadurch übrigens geschädigt wird; die auf diese Weise behandelten Pflanzen produziren viel mehr Adventivknospen wie die normal blühenden.

Es ist bemerkenswerth, dass die knospenerzeugenden Blättchen sehr lose mit der Spindel verbunden sind, so dass dieselben oft frei neben der Pflanze liegen, oder auf dem Wasser treiben, was offenbar ein Mittel zur Verbreitung ist und darauf hinweist, dass die Zuchtwahl bei der Ausbildung der uns beschäftigenden Eigenschaft der Cardamineblätter betheiligt gewesen ist[5]).

[1]) *Bulletin philomatique,* 1816, pag. 71.

[2]) *Bot. Zeit.,* 1843, pag. 537.

[3]) *Organbildung,* Thl. I, pag. 96.

[4]) *Bot. Zeit.,* 1873, pag. 629 und *Bot. Zeit.,* 1874, pag. 621.

[5]) Ob auch bei *Cardamine hirsuta,* wo die Eigenschaft der Knospenerzeugung auf den Blättchen eine mehr accidentelle ist, eine so lose Verbindung zwischen Rachis und Blättchen besteht, weiss ich nicht.

Nicht überall auf dem Blatte sind die Umstände zur Bildung der Knospen gleich günstig; die Basis des Endblättchens kommt dabei zuerst in Betracht, aber auch am Fusse der niederen Fiederblättchen stehen kräftige Knospen, welche jedoch am untersten Blattjoch etwas schwächer werden. Ferner findet man ziemlich viele Knospenanlagen auf den Blättchen selbst und zwar genau in den Eckpunten der Gabelstellen der Nerven; je dicker die Nerven, das heisst je näher bei dem Blattstielchen, desto kräftiger sind diese Knospen.

Vöchting hat gezeigt, dass Schnittwunden in den Blättchen das Auswachsen der Knospen, welche sich oberhalb dieser Schnitte befinden, sehr fördern. Neue Knospen entstehen dadurch aber nicht, allein dieselben sind oft so klein, dass man davon erst etwas bemerkt mit Hülfe des Mikroskops. Meristematische Zellgruppen, welche offenbar Knospen werden mussten, konnte ich schon an noch sehr jungen und wachsenden Blättchen an den Gabelstellen der Nerven auffinden.

Turpin[1]) scheint der Erste gewesen zu sein, welcher die Adventivknospen auf den Blättern von *Nasturtium officinale* gesehen hat, er bemerkte, dass kleine Stückchen dieser Blätter, welche von Phryganidenlarven zum Bau ihrer Gehäuse gebraucht waren, neue Pflanzen erzeugten.

Ich selbst habe diese Pflanze vielfach beobachtet und fand, dass die Knospenbildung auf den Blättern durch ungünstige Lebensbedingungen sehr gefördert wird. Ich stellte Pflanzen in mit Erde angefüllten Bechergläsern an ein Nordfenster und sah schon nach kurzer Zeit die Nebenwurzeln aus der Basis der Seitenknospen und aus deren nächsten Umgebung selbst aus den Luftstengeln in kleinen Bündeln hervorbrechen[2]), und je mehr meine Pflanzen abschwächten und zurückgingen, desto mehr bildeten sich Adventivsprossen auf den Blättern. Während eines ganzen Winters habe ich die Zahl der Knospen auf jedem neu entwickelten Blatte sich vermehren sehen, bis die Pflanze zuletzt derweise mit Blattknospen bestreut war, dass man davon sagen konnte, sie hatte eine wahre Blastomanie, um den von Braun bei einer ähnlichen Gelegenheit gebrauchten[3]) Ausdruck zu verwenden; in einem Falle zählte ich nicht weniger als 54 Knospenanlagen auf einem einzigen Blättchen. Anfangs hatten die eben sichtbar werdenden Knospen die Form von kleinen Knötchen, welche aus dunkelgrünem meristematischem Gewebe bestanden, noch früher beobachtete ich an diesen Stellen eine kleine Vertiefung, eine Hemmungserscheinung in der Streckung des Bildungsgewebes. Da man diese Knospenanlagen schon deutlich beobachten kann auf ganz jungen, noch in der Entwicklung begriffenen Blättern, ist die Annahme erlaubt, dass die Reize, unter deren Einfluss die Knospenbildung zustande kommt, ihre Wirkung in den Meristemen ausüben. Dabei scheint es mir sehr bemerkenswert, dass die Blattknospen von *Nasturtium* ohne Ausnahme auf der Oberseite des Blattes entstehen und dabei eben wie bei *Cardamine* ausschliesslich an den Gabelstellen der Nerven gebunden sind. Diese Umstände weisen nach meiner Ansicht auf einen Zusammenhang zwischen Wasserstrom und Knospenbildung; denn die Xylembündel sind hier, wie gewöhnlich in den Blättern, nach oben gekehrt, und

[1]) *Comptes rendus*, 1859, pag. 19.

[2]) Dieselben entstehen, wie früher hervorgehoben, vollständig exogen.

[3]) Ueber Adventivknospen von *Calliopsis tinctoria*, *Verhandl. d. bot. Vereins d. Prov. Brandenburg*, 1870, pag. 154.

an den Gabelungen der Nerven muss gewiss schon im Blattmeristem ein eigentümlicher Zustand in der Wasserbewegung herrschen. Eben wie bei den früher betrachteten Blattknospen der Monocotylen fand ich auch bei *Nasturtium* und *Cardamine*, dass nicht eine einzelne Zelle, sondern eine Zellgruppe sich an der Knospenbildung beteiligt und dass die Epidermis dabei eine wichtige Rolle erfüllt.

Bei der späteren Entfaltung der Knospenanlagen der *Cardamine*- und *Nasturtium*-blätter sieht man zuerst aus den kleinen Knöllchen eine erste, darnach eine zweite und bisweilen eine dritte Wurzel vollständig exogen entstehen, später bildet sich dann das erste Blatt[1]), das zwar einfach ist, aber durchaus nicht Cotyledonarnatur besitzt, zuletzt entsteht zwischen Blatt und Wurzeln ein Vegetationspunkt. Im Anfang sind diese Wurzeln grün und wachsen eben in diejenige Richtung fort, welche sie zufällig erhielten; sind dieselben 2 oder 3 mm lang, so verlieren sie beim Weiterwachsen ihre grüne Farbe und werden stark geotropisch; in trockener Kammerluft bleiben sie auch weiterhin glatt, in einer feuchten Atmosphäre sind sie dagegen bald mit Wurzelhaaren bedeckt. Wie aus dieser Beschreibung erhellt, lässt sich die Epidermis des Mutterblattes leicht bis über die Spitze der Wurzeln verfolgen, und es kann keine schöneren Objekte geben zur Demonstration der Entstehung der Calyptra aus der Epidermis der Mutterwurzel, hier also auch aus derjenigen des sprossenden Blattes, wie die durchsichtigen Luftwurzeln der Nasturtien.

Die exogene Bildung der Wurzeln aus den Blattknospen von *Cardamine* und *Nasturtium* steht nicht einzig da. Schon früher sahen wir das *Neottia Nidusavis* unter den Orchideen, *Nasturtium sylvestre* und *Cochlearia Armoracia* unter den Cruciferen, ebenfalls exogene Nebenwurzeln aus ihren Stengeln erzeugen. Hier will ich noch darauf aufmerksam machen, dass die Wurzelgruppen in den Blattachseln, auch bei allen übrigen Arten von *Cardamine* und *Nasturtium*, so wie bei einer ganzen Reihe von anderen Cruciferen, exogenen Ursprunges sind: ich hoffe auf diese Angelegenheit ein anderes Mal zurückzukommen[2]).

Wünscht man die Blattknospen von *Cardamine* und *Nasturtium* mit irgend einem anderen Organe dieser Pflanzen zu vergleichen, so wäre es, ohne besondere Einschränkungen, nicht erlaubt, wie aus dem Obigen zureichend erhellt, die Embryonen herbei zu ziehen; dagegen ist die Uebereinstimmung im Bau einer sich bewurzelnden Blattknospe mit der normalen Seitenknospe samt der dazu gehörigen Wurzelgruppe eine so vollständige, dass es keinem Zweifel unterliegen kann, dass bei der Entstehung von beiden identische Kräfte wirksam sind. Es ist die Ueberzeugung dieser Identität, welche mich veranlasst hat, die Blattknospen hier ausführlicher zu besprechen. Schliesslich scheint es mir, bei der Seltenheit solcher Erscheinungen im allgemeinen, ein bemerkenswertes Zusammentreffen, dass sich in der nämlichen Gattung *Nasturtium* Arten vorfinden mit knospenerzeugenden Wurzeln, wie *N. sylvestre* und *N. pyrenaicum* und eine andere Art mit knospenerzeugenden Blättern, nämlich *N. officinale*; ich glaube, dass es

[1]) Die Blätter der Nasturtien besitzen, ähnlich wie bei *Alliaria*, kleine Stipulae, welche schon frühzeitig in ihrer Entwicklung zurückbleiben.

[2]) Man vergleiche auch die während des Druckes dieser Abhandlung erschienene Arbeit von A. Lemaire, Origine et développement des racines latérales, *Ann. d. sc. nat. Bot.*, 7me Sér., T. III, pag. 237, 1886.

die für die Cruciferen so ausserordentlich charakteristische Verbindung zwischen Nebenwurzeln und Seitenknospen ist, worauf dieses Zusammentreffen in erster Linie beruht.

KAPITEL IV.

Geranium sanguineum — Ailanthus glandulosa — Euphorbia Esula — Sium latifolium — Crassulaceen.

Ich will dieses Kapitel anfangen mit der Aufzählung der Namen einiger Pflanzen, welche Wurzelknospen erzeugen, aber wovon mir kaum mehr wie die Existenz bekannt ist. Ich folge bei dieser Aufzählung der gewöhnlichen systematischen Einteilung.

Violaceen. Royer trennt *Viola canina* und *V. elatior* durch ihre Eigenschaft, Wurzelknospen zu erzeugen, von den übrigen Arten[1]). Die Nebenwurzelanordnung ist bei den Violaceen (und Resedaceen) noch nicht genügend festgestellt, bei *Viola tricolor* sah ich oft eine Wurzel aus der Achsel eines Seitenzweiges entspringen, gewöhnliche nodale und internodiale Wurzeln scheinen aber bei diesen Arten vorzuherrschen.

Hypericaceen. Die dickeren holzigen Wurzeln von *Hypericum perforatum* tragen kleine Gruppen von rötlich angelaufenen Knospen, welche sich gewöhnlich rings um die Basis von Seitenwurzeln vorfinden. Auch *Hypericum calycinum* erzeugt bisweilen Wurzelknospen. Die Nebenwurzeln an den Stengeln sind gewöhnlich nodal und dabei oft den Knospen genähert, bisweilen stehen sie paarig unterhalb der Knospen.

Tiliaceen. Nach Warming erzeugt *Tilia* Wurzelknospen; ich habe dieselben aber nicht auffinden können.

Anacardiaceen. Wurzelknospen kommen vor bei *Rhus typhina* und bei *Rhus glabra*.

Auf die Geraniaceen, Simarubaceen, Euphorbiaceen und Umbelliferen, welche in meiner Uebersicht nun eine Stelle finden sollten, weiter unten ausführlicher zurückkommend, will ich zunächst fortfahren, die übrigen mir bekannten Fälle von Wurzelknospen aus den Verwandtschaftskreisen der Aesculinen und Frangulinen anzuführen; nähere Untersuchungen liegen über dieselben bisher nicht vor.

Hierher gehören von den Sapindaceen, *Aesculus macrostachya*. Von den Polygaleen, *Xanthophyllum fraxinifolium*. Von den Calastraceen, *Staphylea trifoliata* und *Evonymus europaeus* bisweilen. Von den Rhamnaceen, *Rhamnus Frangula* nicht immer. Von den Araliaceen, *Panax* und *Aralia spinosa*. Von den Cornaceen, *Cornus alternifolia*, *C. sanguinea* und *C. sericea*, während *C. mas* niemals Wurzelknospen erzeugt. Schliesslich, von den Saxifragaceen, *Hydrangea canescens*, *H. radiata*, *Philadelphus coronarius*, *P. grandiflorus*, *Deutzia* und *Ribes*. Bei allen diesen Arten sind die Wurzelknospen zwar normale Bildungen, entstehen aber manchmal

---

[1]) *Flore de la Côte d'Or*, pag. 108.

so sporadisch, dass man deren Existenz kaum bemerkt und oft erst durch Stecklingsversuche zu beurteilen vermag.

Ueber die Nebenwurzelstellung der genannten Familien kann man in der Literatur manche zerstreute Angaben finden, Zweck einer einheitlichen Untersuchung ist dieser Gegenstand jedoch noch nicht gewesen.

§ 1. *Geranium sanguineum.*

Schon die Hauptwurzel der Keimpflanze von *Geranium sanguineum* ist reichlich mit Sprossknospen besetzt, welche entweder vereinzelt oder zu kleinen Gruppen vereinigt in den Seitenwurzelachseln stehen, besonders in den, der Oberfläche des Bodens zugekehrten Oberachseln[1]). Diese Knospen entwickeln sich aus der Oberfläche des Centralcylinders der Mutterwurzel und sie sind schon ausgebildet zu einer Zeit, wenn die primäre Rinde noch gegenwärtig ist, und dann werden sie natürlich durch diese Rinde überdeckt. Sie entstehen aber jedenfalls erst viel später wie die Seitenwurzeln, wozu sie gehören, denn auf successiven Querschnitten werden dieselben nicht unterhalb der Regione des Dickenwachsthums gefunden, während die Seitenwurzeln schon lange, bevor das Dickenwachsthum in der Mutterwurzel beginnt, da sind.

Die Knospen, welche auf den weiter ausgewachsenen Wurzeln angetroffen werden, bieten eine gewisse Mannigfaltigkeit dar, in Bezug auf ihre Entstehungsweise, dieselben können nämlich entweder unmittelbar aus der Basis der Seitenwurzel hervorgehen, also auf einer ähnlichen Weise, wie die Wurzelknospen von *Nasturtium* und *Cochlearia*, oder sie können aus einem Callus ihren Ursprung nehmen, welcher seinerseits einer Seitenwurzelbasis aufsitzt, oder neben einer solchen aus der Mutterwurzel entspringt und im letzteren Falle an und für sich eine ganze Seitenwurzel ersetzt.

Die Wurzeln von *Geranium sanguineum*, welche ich untersuchte, waren stets zweistrahlig und damit im Einklang sitzen die Seitenwurzeln in zwei Reihen. Die primäre Rinde wird frühzeitig abgeworfen und dabei wird das rote Periderm sichtbar. Der durch Dickenwachsthum entstandene Holzkörper ist sehr fest und zähe und verdankt diese Eigenschaft zwei (*sc* Fig. 30 Taf. III) oder mehr (*sc* Fig. 29*a* Taf. II) Sclerenchymfaserbündeln, welche einen sonderbaren Effekt machen mitten im Holz, bei Wurzeln aber oft vorkommen (sehr schön z. B. bei *Rumex Acetosella*). Die Centralstränge der Seitenwurzeln setzen sich, wie gewöhnlich, den oft vollständig im Sclerenchym eingeschlossenen primären Gefässplatten der Mutterwurzel (*xp* Fig. 29*a*) an. Die Stelle, wo eine Seitenwurzel die secundäre Rinde ihrer Mutterwurzel verlässt (*rl* Fig. 29*b*), ist immer etwas vertieft, das umgekehrte Verhalten also von dem, was wir z. B. bei *Populus pyramidalis* fanden; neben der Vertiefung sitzt aber eine callusartige Wucherung. Aus manchen dieser Wucherungen (*cl* Fig. 28 Taf. II rechts) sieht man Knospen oder schöne Blattsprossen (*gr*) hervorgehen. Zerschneidet man eine Callusgeschwulst, welche äusserlich nichts besonderes hat, der Länge nach, so findet man oft in der Spitze derselben

[1]) Eine gute Abbildung bei Irmisch, Beitrag zur Morphologie einiger europäischen Geranium-Arten. *Bot. Zeit.*, 1874, pag. 567.

einen oder zwei feine Centralcylinder (*cc* Fig. 29*b*), welche offenbar zu Seitenwurzelanlagen gehört haben, welche frühzeitig in ihrer Entwicklung gehemmt sind; übrigens besteht der Callus eben wie das benachbarte Gewebe der secundären Rinde aus stärke- und tanninreichem Parenchym. Verfolgt man diesen Callus-Centralcylinder nach aussen, so ergibt sich, dass eine eigentliche Wurzelmütze nicht mehr wahrnehmbar ist (*cl* Fig. 29*b*), wiewohl eine ziemlich dicke Gewebeschicht die Spitze des Centralcylinders überdeckt. Verfolgt man den Lauf des Centralcylinders nach innen, so findet man, dass derselbe sich entweder (wie in Fig. 29*b*) unmittelbar an das gleichnamige Organ der Mutterwurzel ansetzen kann, so, dass der Callus dann als eine metamorphosirte Seitenwurzel erster Ordnung aufgefasst werden muss, oder der Centralcylinder des Callus vereinigt sich mit dem Wurzelkern der daneben sitzenden Seitenwurzel, wodurch dieser Callus sich als gleichwerthig mit einer Seitenwurzel der zweiten Ordnung ergibt.

Querschnitte sind natürlich besser geeignet, um festzustellen, auf welche Weise die verschiedenen Theile der Mutterwurzel mit dem Callus verbunden sind, wie Längsschnitte. Daraus ergibt sich, dass der Callus eben wie eine ausgewachsene Seitenwurzel mit einem sehr stark entwickelten Markstrahl der Mutterwurzel correspondirt. Die Structur solcher, unterhalb dieser Seitenorgane befindlicher Markstrahlen ist besonders in der Lagerungsrichtung der Zellen und faserigen Elemente verschieden von derjenigen des benachbarten Gewebes des Centralcylinders. Uebrigens ist die Natur der genannten Elemente an sich wieder verschieden, je nachdem man den Markstrahl untersucht unterhalb einer Seitenwurzel oder unterhalb eines knospenerzeugenden Callus. Im ersteren Falle findet man darin, und bei anderen Pflanzenarten ist es ebenso, verholzte Fasern und kurze getüpfelte Gefässglieder. Unter den Knospen verholzt der Markstrahl viel weniger oder durchaus nicht, und besteht im letzteren Falle bei *Geranium sanguineum* ausschliesslich aus parenchymatischem Gewebe, ohne oder mit Stärke, abhängig von der Jahreszeit. Selbst in den Uebergangsbildungen zwischen Wurzel und Spross, welche unten noch Wurzelnatur besitzen, allein auf dem Wege eine Knospe zu werden (wie aus der Gabelung des Centralcylinders erhellt), als ein als Hemmungsbildung aufzufassender Callus zurückgeblieben sind (Fig. 29*a*), ist die Verholzung nur wenig vollständig, und viel Parenchym im Markstrahl unverändert geblieben. Die Entstehung des Markstrahls muss man desshalb als einen Process auffassen, welcher mit der *Entstehung* der Seitenwurzel verknüpft ist, während die Verholzung viel mehr von der Function der Seitenwurzel, also von der Wasserströmung abhängig ist [1]).

Die Veränderung des Callus in eine Knospe geschieht auf derselben Weise wie bei *Populus alba*. Auch hier bekommt man den Eindruck, dass Callus und Knospe nahe verwandte Organe sein müssen, und dass die Umwandlung sich eher vergleichen lässt mit einer Einschränkung und Regulirung der formbildenden Kraft, wie mit der Neubildung eines anderen Organes. Ein Callus ist sozusagen ein amorphes Conglomerat von Blättern. — Die ersten Blätter der Wurzelknospen sind kleine, dicke, fleischige Gebilde (*gr* Fig. 30 Taf. III), welche einen gewölbten grossen Vegetationspunkt einschliessen. Die später entstehenden Blätter

---

[1]) H. Spencer, The principles of Biology, Vol. II, pag. 536, London 1880.

erlangen allmählich die hohe Ausbildung in Scheiden mit Stipeln, Blattstiel und Spreite, welche für die Geraniaceen kennzeichnend ist.

Eine bestimmte Nebenwurzelstellung an den Stengeln ist bei manchen Geraniaceen zu bemerken, besonders wenn man dabei so zu sagen statistisch verfährt. Man bekommt dann das gewöhnliche Resultat: die Nebenwurzeln suchen die Nachbarschaft der Seitenknospen. So findet man an jungen Rhizomen von *Geranium tuberosum* oft, auf beiden Seiten der Seitenknospen, das schuppenartige Tragblatt von einer Nebenwurzel durchbohrt, und später, nachdem die Schuppen abgeworfen sind, wird dieser gegenseitige Zusammenhang noch deutlicher. Auch bei vielen Oxalideen, wie z. B. bei *Oxalis Acetosella* und *O. corniculata*, sind die Nebenwurzeln in engem Zusammenhang mit den Knospen und sitzen vereinzelt oder zu zweien unmittelbar unter denselben oder noch etwas niedriger, unter dem Niederblatte, zu dessen Achsel die Knospe gehört.

§ 2. *Ailanthus glandulosa.*

Die dicken, fleischigen Wurzeln von *Ailanthus glandulosa* sind dadurch merkwürdig, dass sie augenscheinlich an jedem beliebigen Punkte ihrer Oberfläche das Vermögen besitzen, Knospen zu erzeugen. Da die primäre Rinde frühzeitig abgeworfen wird, hat man hier in letzterer Instanz mit einer Eigenschaft des Pericambiums zu thun, denn daraus ist die knospenbildende Gewebeschicht entstanden, allein die Sache wird infolgedessen nicht weniger merkwürdig. Nur in einer bestimmten Hinsicht lässt sich eine gewisse Regel in der Anordnung der Knospen erkennen, dieselben (*gr* Fig. 31, Taf. III links in der Mitte) entstehen nämlich besonders leicht in der Nachbarschaft oder selbst am Rande der schmalen Callusstriche (*cl*), welche beiderseits neben jeder Seitenwurzel (*rl*) sitzen.

Die jungen Knospen sind rundliche, stark behaarte Gebilde von gelblicher Farbe, welche aus sehr untiefen Rindenrissen nach aussen kommen. Da es nur die äusseren Korkschichten des Periderms sind, welche dabei durchbohrt werden, ist es richtiger, die Knospen als exogen, wie als endogen in Bezug auf die secundäre Rinde aufzufassen; natürlich sind dieselben unzweifelhaft endogen, wenn man die primäre Structur der Mutterwurzel dabei in Betracht zieht.

Auf Querschnitten der Ailanthuswurzeln, welche sowohl durch eine Seitenwurzel, wie durch eine Knospe gehen, findet man das Folgende.

Genau in der Mitte befinden sich die drei oder vier primären Gefässplatten (*xp* Fig. 32), worin man eine kleine Gruppe von zwei bis sechs sehr feinen Gefässen unterscheiden kann, deren Lumen von innen nach aussen abnimmt. Der Centralcylinder der primären Seitenwurzel (*rl*) lässt sich bis auf eine dieser Gefässplatten, obschon schwierig, verfolgen. Der secundäre Holzring ist ausgezeichnet durch die sehr weiten Netz- und Tüpfelgefässe (*hg*), welche in dem gelblichen oder durchsichtigen Faser- und Parenchymgewebe eingeschlossen liegen. Nach aussen findet man im secundären Holze einige concentrische Ringe, welche zwar an Jahresringe erinnern, damit aber keineswegs identisch sein können. Ich sah solche Ringe bei unserer Pflanze oft, so wie auch bei manchen anderen Arten, die Natur derselben blieb mir aber unklar. Die Markstrahlen haben untergeordnete Bedeutung, die drei oder vier primären sind symmetrisch ange-

ordnet, die sehr zahlreichen secundären durchsetzen das Holz überall. In der secundären Rinde sind besonders zwei Gewebearten auffallend, nämlich ein wasserhaltiges luftfreies Gewebe, und damit in tangentialer Richtung abwechselnd, die Fortsetzungen der Markstrahlen als ein an Intercellularräumen sehr reiches Parenchym; letzteres ist in der Fig. 32 schattirt. Mehr nach aussen liegen in der secundären Rinde sehr eigenthümliche gelbliche Steinzellengruppen (*sc*), welche den Mutterzellen des Periderms (*ps*) angrenzen. Dieses letztere besteht aus mehreren Schichten tafelförmiger Zellen, welche eine weisse dichte Rinde darstellen.

Die Oberfläche der Seitenwurzeln (*rl* Fig. 32) geht continue in dieses Periderm über, dessenungeachtet findet man in einer kleinen Entfernung beiderseits von der Seitenwurzel die schon oben genannten Callusstreifen (*cl* Fig. 31). Bei *Populus pyramidalis* haben wir ein ähnliches Verhalten gefunden, und ebenso ist es bei vielen anderen Pflanzen. Wesshalb der Callus nicht unmittelbar der Seitenwurzel angrenzt, ist mir noch nicht recht deutlich.

Da die jungen Knospen schon äusserlich an der Wurzeloberfläche kenntlich sind, noch lange bevor sie nach aussen kommen, ist es leicht, Querschnitte ihrer Anlagen darzustellen. In Fig. 32 sieht man bei *gr* eine solche Knospe, welche aus dem Rande eines Callusstreifens entstanden war, und welche nur eine Gewebeschicht unbedeutender Dicke des Callus' durchsetzen musste, um nach aussen zu kommen. Uebrigens kann ich in Bezug auf diese Knospen kurz sein, und muss nur noch erwähnen, dass die Gefässbündelverbindung derselben mit der Holzoberfläche der Mutterwurzel, sowie mit deren Siebbündelsystem in der secundären Rinde erst nachträglich in centripetaler Richtung aus dem Callusparenchym entsteht. In einem genau von mir untersuchten Falle vereinigten die Blattbündel sich zu einem einzigen feinen Gefässbündelstamme (*gf* Fig. 32), welcher blind im Callusgewebe endete.

Trécul[1]) hat bei *Ailanthus glandulosa* ausser Callusknospen noch eine andere Art von Wurzelknospen gefunden, welche, wie aus seiner Figur 6 Pl. 7 hervorgeht, nichts anderes sein können als Umwandlungsproducte von secundären, in der Rinde der Mutterwurzel eingeschlossenen Seitenwurzeln oder von Seitenwurzelkernen.

§ 3. *Euphorbia Esula.*

Eine ganze Reihe von Euphorbien tragen mehr oder weniger zahlreiche Wurzelknospen, am schönsten beobachtete ich dieselben bei *Euphorbia Esula, E. Cyparissias* und *E. Gerardiana.* Ferner gehört *E. amygdaloides* hierher und nach Reichardt auch *E. nicaeensis.* Bei *E. Lathyris,* welche vermittelst Wurzelknospen perennirt und nicht, wie man vielfach angegeben findet, zweijährig ist, sitzen die Knospen sehr zerstreut und sind nicht leicht aufzufinden. Nach Röper werden bei manchen Euphorbien hypocotylische Sprosse gefunden, besonders bei *E. Peplus, E. exigua* und *E. heterophylla*; für *E. exigua* fand ich diese Angabe bestätigt.

Bei den von mir untersuchten Arten war die Stellung der Sprossknospen (*gr* Fig. 39 Taf. III) auf den Wurzeln beinahe immer identisch, nämlich in der

---

[1]) *Ann. d. sc. nat.,* Sér. III, 1847, T. 8, pag. 268.

Oberachsel der Seitenwurzeln (*rl*). Nur selten fehlt die Seitenwurzel unterhalb der Knospe, und auch dann sitzt diese doch ausnahmsweise in einer der vier Seitenwurzelreihen. Verfertigt man Tangentialschnitte von der Rinde unterhalb solcher vereinzelt stehender Knospen, so findet man in den meisten Fällen, obschon nicht immer, ein sehr deutliches Rudiment einer früh abgestorbenen Seitenwurzel neben dem parenchymatischen, mit Stärke reichlich angefüllten Knospenkerne in der secundären Rinde der Mutterwurzel. Die Euphorbiawurzeln haben ein kräftiges Dickenwachsthum und lassen sich am Besten mit einem holzigen Stamme vergleichen. Sie werfen ihre primäre Rinde schon sehr frühzeitig ab und bilden an ihrer Oberfläche eine braune abblätternde Korkschicht.

Die sich aus den Wurzeln erhebenden Stengel tragen in den dichtgedrängten Blattachseln an ihrer Basis eine Unsumme von Knospen, von welchen nur einzelne nahe an der Bodenoberfläche aussprossen. An den auf diese Weise entstandenen Stengeln konnte ich keine Adventivwurzeln auffinden.

In Bezug auf die Keimlinge von *Euphorbia Cyparissias* sagt Irmisch[1]: »Auf der hypocotylen, meist roth überlaufenen Achse erscheinen schon im Laufe des ersten Sommers, besonders da, wo sie dem Boden nahe ist oder in ihn eintritt und in die weisse, sich verästelnde Hauptwurzel übergeht, Adventivknospen, deren zwei erste Blätter ich mehrmals oben und unten, nicht links und rechts, an der Mutterachse stehend beobachtete; sie finden sich in der Regel auch weit hinab auf der gegen einen halben Fuss langen Hauptwurzel, welche schon im ersten Jahre etwas holzig, mindestens sehr zähe wird. Im Herbst des ersten Jahres stirbt die Pflanze, für soweit sie über den Boden tritt, in allen ihren Theilen gänzlich ab und sie perennirt allein durch die unter dem Boden befindlichen Knöspchen, von denen ich im ersten Sommer keines auswachsen sah.«

§ 4. *Sium latifolium. Callusknospen der Umbelliferen.*

Die sehr schönen und auffallenden Wurzelknospen von *Sium latifolium* sind erst im Jahre 1876 von Warming entdeckt und beschrieben[2]. Bei anderen Umbelliferen scheinen keine normalen Wurzelknospen vorzukommen, denn die verschiedenen Beispiele, welche ich davon in der Literatur erwähnt fand, habe ich alle nachuntersucht und dabei ergab sich, dass es sich stets um Callusknospen handelte. Besonders *Eryngium campestre* hat eine starke Neigung zur Erzeugung der zuletzt genannten Knospen; bei *Pimpinella Saxifraga, Falcaria Rivini, Silaus pratensis* und anderen Arten findet man dieselben zwar weniger leicht, jedoch noch ziemlich oft. Bei Stecklingsversuchen mit Wurzelstücken von *Pastinaca sativa* und *Daucus Carota* sah ich nicht ohne Verwunderung Callusknospen entstehen, denn ich glaubte früher nicht, dass ein- und zweijährige Pflanzen eine solche Eigenschaft besitzen könnten. Zwar gelingt dieser Versuch bei *Daucus Carota* sehr schwierig, allein bei *Pastinaca* ziemlich leicht. Bei letzterer Art fand ich, dass die Neigung zur Knospenerzeugung am grössten war am dicken Ende der ganzen Wurzel, aber dass an den Stücken zerschnittener Wurzeln die Knospen sich am

---

[1]) *Bot. Zeit.*, 1857, pag. 471.
[2]) *Bot. Tidsk.*, R. 3, Bd. 1, 1876—77, pag. 107.

Leichtesten an derjenigen Wundfläche ausbilden, welche vor der Isolirung der Wurzelspitze zugewendet gewesen war, also gerade umgekehrt wie bei anderen Pflanzen. Ob dieses Verhalten bei dieser Art allgemein ist oder nur bestimmten Varietäten zukommt, weiss ich nicht. Die Pastinacaknospen sassen theilweise auf dicken kugelförmigen Callusbildungen, welche sich aus der inneren secundären Rinde entwickelt hatten, jedoch auch auf kleinen Wucherungen, welche mitten im secundären Holze aus dem Holzparenchym entstanden waren.

Ganz anders ist die Stellung der normalen Wurzelknospen bei *Sium latifolium*. Sie sitzen in den Seitenwurzelachseln (*rl* Fig. 34 und 35 Taf. III) und brechen schon aus ganz dünnen Wurzeln durch die primäre Rinde (Fig. 35), welche erst lange nach deren Enstehung abgeworfen wird. Da sie sich sehr leicht bewurzeln, bilden sie ein ausgezeichnetes Mittel zur Verbreitung der Pflanze, welche nur selten keimkräftige Samen erzeugt und deren Keimung bisher noch nicht beobachtet wurde.

Die Siumwurzeln sind gewöhnlich dreistrahlig, dessenungeachtet sitzen die Seitenwurzeln daran in vier bis sechs Reihen. Bekanntlich wird dieses abweichende Verhalten bei allen Umbelliferen zurückgefunden, und hängt damit zusammen, daß die Pericambiumschicht in der Richtung der primären Gefäßplatten, das heisst an denjenigen Orten, wo bei anderen Pflanzen Seitenwurzeln angelegt werden, hier durch einen Oelraum unterbrochen ist. Die Initialgruppe für die Neubildung wird dadurch so zu sagen gespalten, so dass zwei Stellen, welche sich für die Seitenwurzelbildung eignen, entstehen, nämlich rechts und links von jeder Gefässplatte eine; die normale Zahl der Seitenwurzelreihen wird desshalb doppelt so gross wie gewöhnlich; weshalb eine oder mehrere der gesammten Reihen gewöhnlich fehlschlagen, weiss ich nicht.

Die primäre Rinde besteht aus einem sehr spongiösen Gewebe und enthält 10 bis 15 Luftkanäle (*kn* Fig. 36), welche durch einfache Zellschichten von einander getrennt sind. Sobald die primäre Rinde abgeworfen ist, verändert sich das Aeussere der Wurzel gänzlich, wie aus der Vergleichung der Figuren 33 und 34 hervorgeht. Der Centralcylinder ist sehr stark in der Dicke gewachsen und hat dabei ebenso viele Rinnen bekommen, wie Seitenwurzelreihen vorhanden sind: jede Rinne entspricht einer solchen Reihe. Auf dem Querschnitte findet man, daß der Boden dieser Rinnen durch einen vierseitig prismatischen Strang von Sclerenchymfasern eingenommen wird. Die secundäre Rinde ist ausserordentlich dick und im Winter strotzend mit zusammengesetzten Stärkekörnern angefüllt: stellenweise kommen darin Luftkanäle vor. Der im Querschnitte sternförmige Cylinder des secundären Holzes ist sehr wenig mächtig, enthält im Innern nur einzelne weite Gefässe und kehrt seine Strahlen den genannten Faserbündeln zu; eigentliche Holzfasern fand ich darin nicht. Bei manchen Siumwurzeln ist man im Zweifel, ob secundäres Holz überhaupt darin entstanden ist.

Da die Knospen zum grössten Theile ruhen, werden dieselben sowohl auf den Wurzeln mit secundärer, wie auf denjenigen mit primärer Struktur angetroffen; im ersteren Falle sind die Knospen aber kleiner und weniger augenfällig, weil dieselben, obschon sehr langsam, doch fortwährend etwas wachsen, und dabei allmählich die ersten, sich früh entfaltenden Blätter abwerfen.

Bei einer genauen Untersuchung der Stellung der Knospen in Bezug auf

Mutterwurzel (*rm*) und Seitenwurzel (*rl* Fig. 37) findet man, dass dieselben nicht genau in den Oberachseln der letzteren sitzen, sondern mehr auf der Seite derselben, wie in der Figur angegeben, und dabei ziemlich willkürlich nach rechts oder links; ich glaube nicht, daß diese Eigenthümlichkeit eine besondere Bedeutung hat, sie hängt wahrscheinlich mit der Stellung des obengenannten Sclerenchymfaserbündels zusammen.

Die Blattstellung der Knospen ist vom Anfang an $^2/_5$; dabei steht das erste Blatt (f^1 Fig. 38), für den Beobachter, welcher die Mutterwurzel vertical vor sich hält, und den Vegetationspunkt der Knospe betrachtet, entweder genau nach rechts oder nach links; das zweite Blatt (f^2) sitzt nach unten oder nach oben, das dritte (f^3) nach oben oder nach unten. Da das erste Blatt mit seiner Rückenseite genau der *Seitenwurzel* zugewendet ist, so finden wir hier ein neues Beispiel für eine für die Wurzelknospen vielfach zutreffende Regel, welche wir besonders schön bei *Rumex Acetosella* kennen lernten und später bei *Cirsium arvense* und anderswo zurückfinden werden. Uebrigens liegt in diesem Falle kein Grund vor zur Behauptung, das erste Blatt der Knospe lasse sich als das Deckblatt derselben betrachten, und dieses wird besonders desshalb unannehmlich, weil das Internodium unterhalb dieses ersten Blattes sich etwas verlängert. Wir werden dagegen bei einigen andern Wurzelknospen sehen, wie bei denjenigen von *Convolvulus arvensis* und *Linaria vulgaris*, dass eben diese letztere Auffassung sich hier so zu sagen von selbst aufdrängt.

Das erste Blatt der Siumknospen ist entweder einfach linealisch (Fig. 35), oder es besitzt eine dreizählige Spreite mit linealischen Fiederchen. Die Samenlappen von *Sium* werden wohl diesen einfachen Blättchen vollständig gleichen. Die späteren Blätter sind zwei bis dreifach gefiedert, wie übrigens für alle Wasserblätter von *Sium* die Regel ist, während die Luftblätter bekanntlich einfach gefiedert sind. Im Knospenzustand sind die Spreiten der Wurzelsprosse sehr hübsch hakenförmig gebogen.

Die zwei ersten Nebenwurzeln, welche ich frühzeitig aus der Basis der Knospen hervorbrechen sah (*ra* Fig. 35 und 36), waren etwas unterhalb des ersten Blattes und neben den Rändern desselben befestigt.

Uebrigens muss ich die Besprechung der Nebenwurzelstellung der Umbelliferen, als noch zu wenig durchforscht, übergehen. Dagegen mögen einige dessbezügliche Bemerkungen über die Crassulaceen an dieser Stelle Raum finden.

§ 5. *Nebenwurzelstellung bei den Crassulaceen. Blattknospen von Bryophyllum calycinum.*

Die vegetative Reproduction der Crassulaceen ist in mancher Beziehung äusserst merkwürdig; dieses gilt besonders für die Wurzelbildung aus den Stengeln und die Knospenbildung aus den Blättern. Ich untersuchte die Nebenwurzelstellung bei *Sedum acre*, welche sehr bemerkenswerth ist. Am unteren Theile des Stengels dieser Pflanze findet man in den Achseln von einigen Blättern Knospen, von anderen Nebenwurzeln, bei wieder anderen beide zusammen, und schliesslich bei den meisten nichts. Die fadenförmigen Wurzeln mit ihren schön carminrothen Vegetationspunkten [1]) entspringen eigentlich aus der Basis der gewöhnlich rudi-

[1]) Rothe Vegetationspunkte, welche oft unter einer farblosen Wurzelmütze sitzen, kommen bei vielen Crassulaceen und Saxifragaceen vor; ich weiss dieselben nur mit

mentär bleibenden Knospe, entweder vereinzelt oder zu zweien und dieselben sind durchaus nicht im Zusammenhang mit dem Centralcylinder des Mutterstengels. In Bezug auf das Tragorgan, hier also die Knospe, sind sie beinahe exogen. Bisweilen findet man in den Blattachseln sehr eigenthümliche Uebergangsbildungen zwischen Knospen und Wurzeln, welche ich an einer anderen Stelle zu beschreiben hoffe. Bei *Sedum purpurascens* und *S. Telephium* findet man durchaus dieselben Verhältnisse zurück.

D. Clos gibt eine Uebersicht der von ihm und anderen Forschern beobachteten Wurzelanordnungen, welche sich ungefähr folgenderweise zusammenstellen lässt:

Erstens, die Nebenwurzeln stehen vereinzelt neben der Basis des Blattes, wie bei *Sedum album*.

Zweitens, neben jeder Seite der Blattbasis sitzt eine Nebenwurzel, wie bei *Sedum spurium*.

Drittens, die Nebenwurzeln sitzen in den Blattachseln, entweder vereinzelt, wie bei *Sempervivum tectorum*, zu zweien wie bei *Sedum altissimum*, oder in Gruppen von ein bis vier wie bei *Crassula arborescens*, *Bulliardia aquatica* und *Tillaea moschata*.

Viertens, die Nebenwurzeln entstehen aus der unteren Insertionslinie des Blattes, dem Rückennerven genähert, wie bei *Crassula lactea*.

Diese Angaben genügen, um zu zeigen, dass die Knospen und Nebenwurzeln der Crassulaceen so zu sagen zusammen gehören, sie verhalten sich durchaus auf der nämlichen Weise, wie bei *Equisetum*, *Marsilia* und *Selaginella*. Ich erwarte desshalb, dass sich in dieser Familie auch leicht Wurzelknospen würden ausbilden können, denn wenn man sieht, dass die Knospen in so hohem Maasse die Stellung der Nebenwurzeln am Stengel beeinflussen, so fühlt man sich geneigt, auch die Existenz der umgekehrten Correlation als wahrscheinlich zu betrachten, wenigstens in einer so plastischen Familie wie die Crassulaceen. Indessen ist mir kein einziges Beispiel von Wurzelknospen bei den Crassulaceen bekannt geworden; specielle gärtnerische Versuche werden aber hier wohl niemals genommen sein, weil diese Pflanzen sich so ausserordentlich leicht vermittelst Stecklinge vermehren lassen.

Dagegen ist die Reproductionsfähigkeit aus den Blättern hier bekanntlich sehr stark entwickelt, und dieses mag zwar in erster Linie auf die Lebenszähigkeit der Gewebe zurückzuführen sein, allein sie dürfte auch begünstigt werden durch die starke »wurzelbildende Kraft« der Knospenanlagen. Besonders bei *Bryophyllum calycinum* sind die allbekannten Knospen der Blattkerben ausführlich untersucht, und Herr Berge hat gezeigt[1]), dass die erste Anlage, Herr Wakker, dass das weitere Auswachsen der zu diesen Knospen gehörigen Wurzeln erst dann erfolgt, wenn eine bestimmte Aenderung im Wasserzustande des Blattes eintritt, durch welche die Entfaltung der Knospe verursacht wird. Herr Wakker[2]) hat diese Aenderung zu bestimmen gesucht, und ist zum Resultat gekommen, dass das Aufhören

dem Augenfleck der Euglenen und anderer Protisten zu vergleichen. Gewöhnlich sind nur vier, sechs oder acht Meristemzellen gefärbt; bei *Sedum acre* kommt dazu noch eine leichte rothe Farbe ein wenig hinter dem Vegetationskegel.

[1]) Beiträge zur Entwicklungsgeschichte von *Bryophyllum calycinum*, pag. 17, Zürich 1877.

[2]) Onderzoekingen over adventieve knoppen, pag. 86, Haarlem 1885.

des Wasserstromes im Blatte, sei es durch Untertauchen in Wasser oder durch Trennung von dem wasseranführenden Mutterstamm, als solche in Betracht kommt. Da diese Aenderung nur die Knospe beeinflusst, muss diese Knospe ihrerseits den Reiz zur Wurzelbildung erzeugen. Wie dieses geschieht, ist zwar noch unbekannt; die Frage ist hier aber scharf gestellt und ihre Beantwortung umfasst offenbar nur ein Theil der Erklärung der schon so oft in dieser Abhandlung genannten correlativen Beziehung zwischen Wurzeln und Knospen, deren Allgemeinheit durch das ganze Reich der Gefäßpflanzen wenigstens schliessen lässt, dass sie, obschon so oft mit anatomischen Structurdetails in Zusammenhang, auch vollständig unabhängig davon sein kann.

KAPITEL V.

Epilobium angustifolium — Hippophaë rhamnoides — Rubus Idaeus — Rosa pimpinellifolia — Spiraea Filipendula — Coronilla varia.

§ 1. *Epilobium angustifolium.*

Die Keimpflanzen von *Epilobium angustifolium* können schon auf ihrer Hauptwurzel Wurzelknospen erzeugen; diese letzteren wachsen sehr schnell und einzelne Exemplare kommen schon in dem ersten Sommer zur Blüthe. Die Stengel sterben darnach bis tief unter der Bodenoberfläche ab, und die Erneuerung findet dann statt vermittelst der genannten Wurzelknospen. In den späteren Jahren sind zwei Knospenarten für die Sprossbildung disponibel, erstens, die auf den Seiten- und Nebenwurzeln entstandenen Knospen und zweitens, Knospen, welche auf einem lebendig bleibenden unterirdischen Theile der vorjährigen Sprosse sitzen.

Die Querschnittsbilder der Epilobiumwurzeln, welche schon längst durch Dickenwachsthum verändert sind, können ausserordentlich verschieden ausfallen je nachdem man jüngere oder ältere Wurzeln untersucht. Bei den ersteren findet man rings um den mit Leisten und Rinnen versehenen secundären Holzcylinder, welcher nur geringe Mächtigkeit besitzt, eine sehr dicke secundäre Rinde mit Stärke-, Schleim- und Raphidenzellen; bei den letzteren hat der Holzcylinder eine relativ viel grössere Ausdehnung erfahren wie die Rinde, und zeigt die Eigenthümlichkeit eines Abblätterungsprocesses innerhalb einer Höhlung, welche sich rings um eine vertrocknete centrale Strangmasse gebildet hat. Auch die äussere Oberfläche der Wurzel verliert fortwährend das Periderm in Form dünner Korklamellen. Sind die Wurzeln fünfstrahlig, was der gewöhnliche Fall ist, so gleicht die innere Höhlung einem fünfstrahligen Sterne, bisweilen sieht man aber die Vierzahl vorherrschen.

Da die anatomische Structur der Epilobiumwurzeln, wie aus diesen Andeutungen erhellt, in mancher Beziehung interessant ist, habe ich mich beschäftigt, eine ganze Menge dieser Wurzeln in einer Haide auszugraben. Ich fand dabei eine große Mannichfaltigkeit in Bezug auf das gegenseitige Verhältniss zwischen Seitenwurzeln und Knospen; die von mir beobachteten Fälle habe ich in Fig. 40

in einem einzigen Uebersichtsbild zusammengestellt, das, wie ich glaube, eine weitere Beschreibung dieser Stellungsverhältnisse überflüssig macht. Man sieht daraus, wie fest, bei aller Schwankung in anderen Hinsichten, die morphologische Regel ist, nach welcher die Wurzelknospen an der Basis der Seitenwurzeln gebunden sind.

Die Seitenwurzeln sind in kurzen Reihen von 2 bis 4 Stück angeordnet, wovon die äussersten stets die jüngsten sind. Die Ursprungsstellen der Letzteren liegen ziemlich tief in der secundären Rinde vergraben, so dass man schliessen muss, dass sie sehr spät angelegt werden; verfolgt man deren Centralcylinder, so findet man, dass dieser sich mit demjenigen einer benachbarten älteren Seitenwurzel verbindet.

Die Knospen entstehen aus der Basis der Seitenwurzeln, jedenfalls erst dann, wenn diese selbst bis zu einer beträchtlichen Länge ausgewachsen sind, und mit dieser späten Entwicklung in Uebereinstimmung üben sie keinen grossen Einfluss aus auf die Structur des Centralcylinders, welcher sich unter ihnen in der Seitenwurzel befindet. Im Allgemeinen scheint die Knospe am leichtesten in der Unterachsel (*l* Fig. 40) zu entstehen, Ausnahmen sind aber nicht selten. In einzelnen Fällen fand ich die Knospen ziemlich tief in der Rinde der Mutterwurzel befestigt, und ich zweifle nicht daran, dass sie dann durch directe Umwandlung secundärer Seitenwurzelanlagen entstanden wären.

Die ersten Blätter der Angustifoliumknospen sind decussirt gestellt; von dem ersten Blattpaare sitzt, wie ich glaube immer, ein Blatt der zugehörigen Seitenwurzel zugewendet. Die jungen, noch in der Knospenanlage befindlichen unterirdischen Blätter besitzen ein schönes, violettes, der Blüthenfarbe ähnliches Colorit.

So bald es einer Wurzelknospe gelingt, ein oberirdisches Sprosssystem zu erzeugen, werden die nächstbenachbarten Knospen in Folge von Wachsthumscompensation zu Schlafaugen, welche viele Jahre lang ruhen können. Neue Knospen bilden sich dann vorerst (ich zählte z. B. derer drei bis fünf Jahrgänge), wie schon oben hervorgehoben, aus der Basis der beim Absterben der oberirdischen Theile lebendig bleibenden unterirdischen Stengelreste; zu einer eigentlichen Rhizombildung kommt es hier niemals, was übrigens auch für alle andere Pflanzen mit Wurzelknospen zutrifft. Bei *a* Fig. 40 sieht man ein im October ausgegrabenes dreijähriges, kurz zusammengedrungenes Sprosssystem, wovon die diessjährige Stengelbasis II mehrere Knospen trägt, von welchen eine der unteren, nämlich III den Erneuerungsspross des nächsten Sommers erzeugen wird; bei I befindet sich die Narbe des vorjährigen Sprosses.

Zum Schlusse erlaube ich mir kurz auf die Nebenwurzelstellung der Epilobien und ihrer Verwandten hinzuweisen. Diese ist eine eigenthümliche. Bei *Epilobium angustifolium* fand ich an den unterirdischen Stengeln entweder eine Wurzel in der Seitenknospenachsel, gerade so wie bei *Lythrum Salicaria*, oder zwei Wurzeln, je eine rechts und links von der Knospe und zu gleicher Zeit etwas unterhalb derselben; für manche Wurzeln konnte ich aber keine bestimmte Stellung auffinden. Bei den merkwürdigen Zwiebeln von *Epilobium parviflorum* sitzen je zwei Nebenwurzeln in den Achseln der Zwiebelschuppen, und ähnliche Verhältnisse werden bei anderen Arten gefunden. So findet man bei *Isnardia palustris*, welche zwei bis drei nodale Wurzeln an den horizontalen Sprossen trägt, besonders an

den aufrechten Zweigen eine Wurzel in der Knospenachsel. An den Keimachsen von *Trapa natans* sitzen Nebenwurzeln genau unterhalb der Knospen und die merkwürdigen Schwimmwurzeln von *Jussiaea repens* sitzen eben wie die normalen Wurzeln der Pflanze wenigstens zum Theile in den Blattachseln.

Die Stellung der Nebenwurzeln an den Stengeln scheint auch bei der verwandten Familie der Haloragidaceen [1]) überall ziemlich eigenthümlich zu sein, denn für verschiedene Arten werden durch Clos blattachselständige Wurzeln erwähnt, wie bei *Myriophylum intermedium, M. siculum* und *Proserpinaca palustris*, so wie durch Irmisch ein Zusammenhang der Wurzeln mit den Seitenknospen bei *Hippuris vulgaris*. Andere Arten verdienen näher untersucht zu werden.

§ 2. *Hippophaë rhamnoides.*

Auch bei dieser Pflanze (Fig. 41 *a* Taf. IV) stehen die zweireihig angeordneten Seitenwurzeln zu kleinen zwei- bis viergliedrigen Gruppen vereinigt, ähnlich also wie bei *Epilobium angustifolium* und *Rumex Acetosella*. Diese Seitenwurzeln sind nicht alle gleich alt und damit in Uebereinstimmung entstehen sie nicht gleich tief in der secundären Rinde. Die Mutterwurzel besitzt einen zweizähligen Centralcylinder (Fig. 41 *b*), welcher beim Dickenwachsthum zwei breite Markstrahlen erzeugt. Die Verbindung der ältesten Seitenwurzeln mit den primären Gefässplatten ist sehr leicht zu beobachten, für die später entstehenden Seitenwurzeln ist dieses schwieriger.

Einzelne Wurzeln von *Hyppophae* erzeugen Knospen, wie schon von Oersted angegeben, und diese Eigenschaft soll ebenfalls bei *Elaeagnus argentea* und *E. angustifolia* vorkommen, die Knospen sind aber sporadisch und man muss oft lange danach suchen; bei *Hippophaë* bilden sie unzweifelhaft ein Mittel zur Verbreitung der Pflanze im Dünen- und Haidesand. Eine genaue Betrachtung der Knospen lehrt, dass dieselben ohne Ausnahme in den Nebenwurzelreihen sitzen, darin nur selten allein stehen, sondern gewöhnlich in den obengenannten Seitenwurzelgruppen vorkommen. In Fig. 41 *a* findet man die gewöhnlichen Combinationen zusammengestellt. Es kann nicht daran gezweifelt werden, dass diese Knospen metamorphosirte Wurzelanlagen sind. Zwar ist die Zahl, welche sich in einer knospenführenden Gruppe vorfindet, oft grösser, als wenn sich nur Wurzeln darin gebildet hätten, allein man hat Grund, solche Fälle durch eine frühzeitige Verzweigung zu erklären. Dass die Knospen bisweilen auf der Basis der Seitenwurzeln selbst vorkommen (*h* Fig. 41 *a*), muss durch Gewebeverschiebungen erklärt werden, und wir haben auch schon bei *Anemone sylvestris* ein ähnliches Verhältniss gefunden. Eine unzweifelhafte Bildung von Seitenwurzeln aus der Basis schon vorhandener Seitenwurzeln sah ich nicht und führe desshalb auch die Knospen auf die Mutterwurzel zurück.

Die Stellung der ersten Blätter an den Wurzelknospen ist nicht vollkommen constant; gewöhnlich sitzt die erste Zweizahl rechts und links in Bezug auf Mutterwurzel und Seitenwurzeln, und es ist dabei bemerkenswerth, dass diese Blätter von einem kurzen Internodium getragen werden und nicht direct mit der Mutterwurzel verbunden sind.

---

[1]) Die Existenz von Wurzelknospen in dieser Familie fand ich nur für *Gunnera scabra* angegeben.

§ 2. *Rubus Idaeus, R. odoratus und Rosa pimpinellifolia.*

Es gibt keine andere Familie mit so vielen Arten, welche Wurzelknospen erzeugen, wie die Rosaceen; besonders die Anzahl der baumartigen hierhergehörigen Formen ist sehr gross. Selbst diejenigen Arten, bei welchen in unserem Clima Wurzelknospen unbekannt sind, tragen unter den Tropen nicht selten Wurzelbrut, wie Apfel und Birne; dabei muss aber nicht vergessen werden, dass solche Arten zu Gattungen gehören, für welche die genannte Eigenschaft normal ist. In der Uebersicht der Rosaceenarten, für welche ich die Existenz von Wurzelknospen angegeben fand, und welche ich nun folgen lasse, kommen vielleicht einige Arten vor, welche nur Callusknospen erzeugen, wodurch der Werth meiner Angabe geringer wird; ich war aber nicht in der Lage, alle Arten selbst zu untersuchen und musste mich desshalb auf gärtnerische Verzeichnisse beschränken.

Die hier zu nennenden Arten sind nun die folgenden: *Amelanchier ovalis, A. vulgaris, A. Botryapium; Cydonia vulgaris, C. japonica, Cotoneaster vulgaris, C. pyracantha; Pyrus, Rosa; Sorbus torminalis; Rubus odoratus, R. suberectus, R. Idaeus, R. caesius, R. plicatus; Kerria japonica; Spiraea Filipendula, S. hypericifolia, S. Douglasi, S. nepalensis, S. expansa, S. corymbosa, S. sorbifolia, S. laevigata, S. salicifolia; Amygdalus nana, A. sibirica; Prunus domestica, P. Padus, P. Armeniaca, P. Cerasus, P. insititia, P. spinosa, P. lusitanica, P. canadensis* und *P. Laurocerasus.*

Zur näheren Betrachtung von *Rubus Idaeus, R. odoratus* und *Rosa* übergehend, bemerke ich zuerst in Betreff auf die Himbeere, dass das Perenniren dieser Pflanze zwar nicht ausschliesslich, jedoch für einen wichtigen Antheil von der Existenz der Wurzelknospen abhängig ist und dass die gärtnerische Multiplication darauf beinahe ausschliesslich beruht. Die Wurzelknospen sitzen schon eben so gut an der fadendünnen Hauptwurzel der Keimpflanze, wie an allen späteren Wurzeln und deren Verzweigungen, allein dem Hypocotyl fehlen sie; jedenfalls müssen dieselben also als vollkommen normale Organe betrachtet werden. Auch bei *Rubus odoratus* sind die Wurzelknospen sehr allgemein, dagegen bei den Rosen viel seltener. Ursprung und Stellung der Knospen sind bei allen diesen Arten so vollkommen übereinstimmend, dass es mir geeignet vorkam, dieselben zusammen zu behandeln.

Das Dickenwachsthum der Rosaceenwurzeln ist ein sehr ausgiebiges, und damit hängt zusammen, dass die primäre Rinde frühzeitig abgeworfen wird, das Pericambium, welches dadurch an die Oberfläche kommt, bildet im Allgemeinen eine dunkelbraune abblätternde Korkschicht, durch welche man die Knospen hervorbrechen sieht. Bei allen von mir untersuchten Arten fand ich das nämliche Verhalten, und ich muss desshalb glauben, dass die Knospen bei den Rosaceen im Allgemeinen viel später angelegt werden, wie die direct aus dem Pericambium entstehenden primären Seitenwurzeln. Dieses ist desshalb merkwürdig, weil diese Knospen ohne Ausnahme in den Seitenwurzelreihen angeordnet sind. Bei der vierzähligen Wurzel von *Rubus Idaeus* (Fig. 42 Taf. IV)[1]) stehen die Knospen und Seitenwurzeln desshalb in vier Reihen, bei *R. odoratus* ebenso, bei *Rosa pimpinellifolia* gewöhnlich in drei, bei *Prunus domestica* in sieben u. s. w. Eine andere Beziehung

[1]) In dieser Figur sind durch die Buchstaben *a—e* die verschiedenen von mir gesehenen Stellungen der Wurzelknospen der Himbeere angegeben.

zwischen den Knospen und den Seitenwurzeln wie diese, konnte ich bei den genannten Arten nicht sicher auffinden, obschon ich lange nach Seitenwurzelanlagen neben den Knospen gesucht habe. Nur bei *Rubus odoratus* fand ich in Tangentialschnitten durch die secundäre Rinde der Mutterwurzel neben der weiten Marklücke, welche sich unterhalb der Knospen vorfindet, einen rudimentären Gewebestrang, der eine eigenthümliche Structur besass, rundlichen Umriss hatte und vollständig identisch zu sein schien mit den auf Wurzelrudimenten zurückzuführenden Gebilden, welche bei *Euphorbia Esula* neben den wenigen Knospen vorkommen, welche nicht in der Achsel einer Seitenwurzel sitzen, so dass ich daraus schliessen zu müssen glaube, dass auch bei *Rubus odoratus* die scheinbar vereinzelt stehenden Knospen zu Seitenwurzeln gehören, welche nicht zur Ausbildung gelangen. Bei der äusseren Betrachtung knospentragender Himbeerenwurzeln findet man nur vereinzelte Knospen in den Seitenwurzelachseln, so dass diese Stellung hier eine zufällige zu sein scheint. Bei dieser Pflanze und bei der Rose habe ich auch nach den genannten Rudimenten vergebens gesucht, und es ist jedenfalls sicher, dass viele ihrer Knospen durchaus unabhängig von Seitenwurzeln entstehen müssen, da sie selbst im Korkcambium der secundären Rinde angelegt werden können. Ich habe dieses besonders deutlich für die Rosenwurzeln constatiren können. In Fig. 43 sieht man den Querschnitt der dreistrahligen Wurzel von *Rosa pimpinellifolia;* unterhalb des Periderms *(p d)* ist die Knospe gefestigt und kommt durch einen Riss in demselben nach aussen. Die Knospe correspondirt zwar mit einem der Markstrahlen *(m s)*, ist damit aber keineswegs durch einen Gefässstrang verbunden; selbst die Sclerenchymfaserbündel *(s c)* laufen ununterbrochen unterhalb der Knospe hindurch, sodass diese sich durchaus als eine Neubildung des Korkmeristems und der darangrenzenden Zellschichten ergibt. Uebrigens findet man, dass die Centralcylinder der stärkeren Knospen mit dem secundären Holze und dem Cambium der Mutterwurzel direct zusammenhängen und, dass man diese letzteren Knospen, wenigstens ihrer Stellung nach, als metamorphosirte Seitenwurzeln auffassen kann.

Die aus den Wurzelknospen der Himbeere entstehenden Sprosse, erzeugen einen rosenfarbigen Stengeltheil mit Blattschuppen von derselben Farbe, sie sind ziemlich stark behaart und tragen eine dicke Endknospe, augenscheinlich ohne jede besondere Anpassung an das unterirdische Leben.

Pyrus japonica bildet ausserordentlich leicht Wurzelknospen, welche dann und wann unmittelbar zu Blüthenbündeln auswachsen[1]). Die Knospen werden oft auf einem kleinen Callus erzeugt, welch letzterer irgend aus der secundären Rinde genau in der Richtung eines kräftigen primären Markstrahles entsteht und auf der bei *Populus alba* beschriebenen Weise, so zu sagen allmählich, in eine beblätterte Knospe verändert. Hier scheint mir durchaus kein Grund mehr vorzuliegen, die Knospe als ein Umwandlungsproduct einer Wurzel aufzufassen.

§ 4. *Spiraea Filipendula.*

Spiraea Filipendula besitzt bekanntlich zwei verschiedene Wurzelarten, nämlich erstens fadenförmige und zweitens moniliform verdickte, beide sind in der Regel

[1]) *Gard. Chronicle,* 21 Febr. 1885, pag. 249.

dreizählig und verlieren frühzeitig ihre primäre Rinde; das Periderm wird später bei beiden dunkel schwarz. Wenn man die knolligen Wurzeltheile dieser Pflanze in cylindrische Stücke[1]) zerschneidet und diese eingräbt, so bilden sich daraus bald neue Individuen. Letztere stehen vorzugsweise in der unmittelbaren Nähe der Wundfläche des Oberendes, sie gehören überdies stets zu einem Seitenwurzelbündel, welches hier ähnlich gebaut ist, wie bei *Epilobium angustifolium*. Auch hier findet man nämlich stets, eben wie bei letzterer Pflanze, die Neubildung von Seitenwurzeln *(r l*[1] Fig. 44) aus der Mutterwurzel an der Basis schon vorhandener Seitenwurzeln *(r l)* localisirt, an allen übrigen Stellen der Mutterwurzel scheint diese Facultät zur Reproduction zu fehlen; die Seitenwurzeln verschiedenen Alters kommen daher in zwei- bis dreizähligen Reihen zu stehen. Die jüngeren werfen bald ihre primäre Rinde ab und werden dann schwarz; nur einzelne davon schwellen zu den stellenweise verdickten Wurzeln an, die meisten bleiben dünn. Wenn sich Wurzelknospen gebildet haben, so stehen diese auf der Basis der Seitenwurzeln, dort, wo die Letzteren die Mutterwurzel verlassen, sie stimmen in dieser Beziehung am nächsten überein mit den Knospen, welche wir bei *Nasturtium* und *Cochlearia* gefunden haben. Sie stehen gewöhnlich in einer kleinen Gruppe zusammen; beim Weiterwachsen wird aber nur eine davon bevorzugt. Hat man auch keine directe Veranlassung, die Knospe als metamorphosirte Seitenwurzel der zweiten Ordnung zu betrachten, so ist doch jedenfalls sicher, dass sie aus dem, zur Bildung solcher Seitenwurzeln bestimmten Gewebe hervorsprosst.

Nebenwurzelstellung bei den Rosaceen. Bei nur wenigen Familien lässt sich der Zusammenhang zwischen Seitenknospen und Nebenwurzeln an den Stengeln, mögen diese unterirdisch oder oberirdisch sein, so leicht und so allgemein darthun wie bei den Rosaceen. Ein Zirkel mit der Knospenbasis als Mittelpunkt bildet die Insertionsstelle für die Nebenwurzeln, wenn man die mittlere Stellung von vielen Arten als Maassstab nimmt. So findet man bei *Kerria japonica* eine Nebenwurzel in der Achsel der Seitenknospe; bei vielen Spireen beiderseits neben den Knospen eine Wurzel; so ist es ebenfalls bei den Rosen, wo sich noch überdies Wurzeln direct unterhalb der Knospe vorfinden. Bei den Potentillen sitzt oder sitzen eine oder mehrere Wurzeln an den Knoten, der Seitenknospe genähert, welche beim Auswachsen die, die Knospe schützende Blattscheide durchbohren. Oft sieht man bei derselben Potentillapflanze an einem Knoten die Wurzeln oberhalb der Blattinsertion, an einem anderen Knoten etwas darunter[2]).

§ 5. *Coronilla varia.*

Von den krautartigen Papilionaceen ist *Coronilla varia* die einzige mir bekannte Art mit Wurzelknospen. Von den holzigen Formen, welche in dieser Beziehung zu erwähnen sind, nämlich *Coronilla Emerus, Cytisus purpureus, C. sessilifolius, C. Laburnum, Genista sagittalis, Gymnocladus canadensis, Robinia Pseudoacacia, R. hispida, Apios frutescens* und *Wistaria chinensis,* besitzen wahrscheinlich einige Arten nur Callusknospen.

[1]) Diese riechen während einiger Augenblicke nach dem Zerschneiden angenehm aromatisch nach Saligenol.

[2]) An den verholzten Stengeln vieler Rosaceen bilden sich bekanntlich oft, obschon mit sehr verschiedener Leichtigkeit bei den verschiedenen Arten, internodiale Nebenwurzeln.

Coronilla varia hat dreistrahlige Wurzeln, welche ziemlich stark verholzen und die gewöhnliche, für die Dicotylen eigenthümliche Structur besitzen. Nachdem die primäre Rinde abgestorben ist, entwickeln sich an der Basis der Seitenwurzeln zahlreiche Wurzelknospen, welche nur ausnahmsweise allein stehen und auch dann in den Seitenwurzelreihen vorkommen. In Fig. 45 Taf. IV sieht man deren normale Stellung angedeutet, welche in Bezug auf die Mutterwurzel die Oberachsel der Seitenwurzel ist. In den Unterachseln der Seitenwurzeln werden die Wurzelknospen seltener angetroffen und am seltensten auf den Seitenkanten der Wurzelbasen. Da wir auch hier, wie in so vielen anderen Fällen, oft zwei oder drei Wurzeln zu einer Gruppe vereinigt beisammen finden, können auch die Knospen eine ähnliche Stellung zeigen, dabei ist es auffallend, dass keine zwingenden Gründe vorliegen, die Knospen als metamorphosirte Wurzeln anzusehen, denn die Zahl der zu den knospenführenden Wurzelgruppen gehörigen Wurzeln ist nicht geringer als wenn keine Knospen darin vorkommen. Aus der schematischen Zeichnung Fig. 46 wird dieses Verhalten sofort erhellen[1]). Man sieht daraus, dass selbst eine Sechszahl von Knospen zu einem zweizähligen Wurzelbündel gehören kann. Die Linie, durch welche die Seitenwurzelbasen in der Figur verbunden sind, kommt wirklich vor, es bleibt nämlich beim Verschwinden der primären Rinde ein feiner Gewebestreifen genau in den Seitenwurzelreihen zurück.

Die Knospen haben eine grosse Neigung auszuwachsen, wobei sie anfangs unterirdische, fadenförmige (Fig. 45) farblose Sprosse bilden mit sehr kleinen Blättern, an denen sich aber leicht die Spreite und die Nebenblätter erkennen lassen; die Spreite des Endblättchens ist gekrümmt, so dass der Spross hakenförmig endet, was bei den Rhizomen vieler anderer Papilionaceen ebenfalls beobachtet werden kann. Die Stellung der ersten Blätter am Sprosse scheint keine constante zu sein: zwar findet man gewöhnlich das erste und zweite Blatt der Wurzelknospen (*g r* Fig. 48 *a* und *b* Taf. IV) nach rechts und links in Bezug auf Mutterwurzel (deren Wachsthumsrichtung in der Figur durch die Pfeile angegeben ist) und zugehörigen Seitenwurzel (*r l*) gestellt (Fig. 48 *a*); in anderen Fällen fand ich aber das erste Blatt der Seitenwurzel, wozu die Knospe gehörte, zugekehrt (Fig. 48 *b*); hier war das Verhalten also zu vergleichen mit dem, was wir bei *Rumex Acetosella* gesehen haben.

Die anatomische Structur der Verbindungsstelle zwischen Knospe und Wurzel ist verschieden, je nachdem man eine allein stehende Knospe untersucht, oder eine zu einer Seitenwurzelgruppe gehörige. Während, wie oben angeführt, kein Grund vorliegt, die Knospe in letzterem Falle als umgewandelte Wurzelanlage aufzufassen, könnte man sich dazu im ersteren Falle versucht fühlen: es sind besonders die Hauptwurzeln der Keimpflanzen, welche ihre primäre Rinde noch besitzen, woran man solche einsame Knospen antrifft. Vergleicht man nun Wurzelkern (*k w* Fig. 47) und Knospenkern (*k w'*) mit einander, so findet man als Hauptunterschied, dass sich unterhalb der Knospe eine Marklücke gebildet hat, welche aus Stärkeparenchym besteht und bis tief in den Centralcylinder der Mutterwurzel eindringt. In dem Seitenwurzelkern kommt eine solche Marklücke nicht vor, sondern eben an deren

[1]) Der Lithograph hat die Punkte, durch welche die Knospen angedeutet werden, etwas zu fern von den Seitenwurzelbasen gezeichnet.

Stelle ist starke Holzbildung zu beobachten. Also auch hier wieder die gewöhnliche Einrichtung, welche in Bezug auf die Oeconomie der gesammten Pflanze recht verständlich ist, allein keine Sicherheit zu geben vermag über die morphologische Natur der primordialen Knospenanlage.

Die Wurzelknospen von *Coronilla varia* scheinen zuerst durch Irmisch beobachtet zu sein. Er untersuchte auch *C. montana* und *C. vaginalis* und fand dabei diese Organe nicht. Irmisch sagt in Bezug auf die Keimlinge unserer Pflanze Folgendes [1]. »Die Hauptwurzel dringt tief in den Boden hinein, und auf ihr fand ich an den Keimpflanzen bereits im August, wo nicht selten die vertrockneten Keimblätter noch vorhanden waren, zahlreiche Adventivknospen, ja schon Anfang Juli erkannte ich die flachen Wülste, aus denen sie hervorbrechen sollten. Ihre ersten Blätter, die oft links und rechts in Bezug auf die aufrechte Hauptwurzel standen, waren unvollkommen. Manche Knospen waren im August schon zu kleinen Stengeln ausgewachsen, deren einige drei- und fünfzählige Laubblätter hatten, während andere klein und unter dem Boden bleiben; zuweilen mögen alle Adventivknospen das erste Jahr unterirdisch verschlafen«. Ob die Pflanze jemals aus dem Keimstengel Blüthen bringt, ist mir unbekannt geblieben; ich glaube, dass dieses niemals der Fall sein kann und dass die Existenz der Art durch die Wurzelknospen bedingt wird.

Die Nebenwurzelstellung der Papilionaceen gibt zu genau denselben Bemerkungen Veranlassung wie bei den Rosaceen, auch hier ist in so zahlreichen Fällen eine correlative Beziehung zwischen Seitenknospen und Nebenwurzeln nachweisbar, dass man gezwungen ist, darin ein primäres Agens der Stellungsverhältnisse der Nebenwurzeln zu erblicken. Da die Betrachtung jeder zuerst zur Hand kommenden Papilionacee, z. B. eines *Lathyrus*, eines *Trifolium*, einer *Vicia* geeignet ist meine Ansicht zu beweisen, will ich darauf heute nicht weiter eingehen. Auch hoffe ich noch einmal in mehr Einzelheiten, als wozu ich nun die Gelegenheit habe, auf diese Sache zurückkommen zu können.

—

KAPITEL VI.

Monotropa Hypopitys — Convolvulus arvensis — Solanum Dulcamara — Linaria vulgaris — Orobanche Galii.

§ 1. *Monotropa Hypopitys. Wurzelknospen und Nebenwurzeln der Ericaceen im weiteren Sinne. Primulaceen.*

Auch für *Monotropa Hypopitys* scheint es wieder Irmisch zu sein, welcher die wurzelständigen Adventivknospen entdeckt hat. Er sagt in Bezug auf diese Pflanze das Folgende [2]: »Eine Pflanze, von der ich glauben musste, dass sie direct aus einem Samenkorn hervorgegangen war, trug an den beiden untersten Blatt-

[1]) *Bot. Zeitung*, 1857, pag. 456.
[2]) *Bot. Zeitung*, 1857, pag. 465.

knoten tief unten am Stengel, wo aus demselben sich sofort eine Wurzel (die Hauptwurzel) senkrecht nach unten fortsetzte, erst je ein Paar Schuppenblätter (das unterste entsprach wohl den Kotyledonen), welche besonders desshalb deutlich opponirt erschienen, weil die Schuppen seitlich durch eine niedrige, an der blattlosen Stengelseite ablaufenden Leiste verbunden waren; die Leiste fehlte an den nächsten vier Blattpaaren, deren Blätter noch opponirt standen, während die folgenden spiralig angeordnet waren. Unterhalb des allerältesten Blattpaares gingen links und rechts an der Grenze der hypocotylischen Achse und der Hauptwurzel, Wurzeläste ab, und auf einem derselben stand dicht an der Stelle, wo er mit jener Achse zusammenhing, ein Adventivspross«. Da Kamienski Drude, ich selbst und andere oft nach den Keimpflanzen von *Monotropa* gesucht haben, allein stets vergebens, scheint diese Pflanze sehr abhängig zu sein von ihren Wurzelknospen, und da keine anderen Reproductionsorgane vorkommen, kann es nicht befremden, dass diese Knospen schon bei der Keimpflanze gefunden werden.

In Bezug auf die Reproductionserscheinungen an den Wurzeln der erwachsenen Pflanze kann ich nur die Resultate von Kamienski bestätigen[1]). Diese Resultate sind aber so interessant, dass die wiederholte Beschreibung derselben mir nicht überflüssig erscheint.

Die Wurzeln von *Monotropa*, welche ich untersuchte (Fig. 49*a* Taf. IV unten links) waren alle dreistrahlig: dieselben besitzen, wie es scheint, kein Dickenwachsthum und verlieren ihre dicke, braune, primäre Rinde (*cp* Fig. 49*b* und *c*) nicht. Es ist sehr mühsam, ein sauberes Wurzelsystem, wie ein solches in Fig. 49*a* abgebildet ist, aus Humus und Erde loszupräparieren; dieses rührt daher, dass die Function der hier fehlenden Wurzelhaare auf der ganzen Oberfläche der Wurzelspitze, wie Kamienski gezeigt hat, übernommen wird durch eine dicke Mycelschicht, deren Verzweigungen in die Umgebung hineindringen und diese Letztere sehr compact mit der Wurzel verbinden: dazu kommt, dass die Wurzeln ausserordentlich zerbrechlich und sehr stark verzweigt sind. An wohlgelungenen Präparaten kann man leicht drei Jahrgänge der Pflanze erkennen. Da die Pflanze nämlich nur aus der Wurzel Sprosse erzeugt (*gr* Fig. 49*a*), und diese Wurzel wenigstens noch im dritten Jahre (möglich auch noch später) nach ihrer Entfaltung fortlebt, trägt sie nahe bei der Spitze Knospenanlagen, im mittleren Theile zur Entfaltung fertige Knospen oder blühende Pflanzen, am Hinterende die zurückgebliebenen Basen der oberirdischen Theile des vorigen Jahres. Die schönen weissen saftigen diessjährigen Knospen (*gr*) stehen in den Seitenwurzelachseln, jedoch gehört lange nicht zu jeder Wurzel eine Knospe. Kamienski zeichnet dieselben (l. c. Pl. I, Fig. 1) nur in den Oberachseln, ich fand sie aber eben so oft in den Unterachseln, jedoch niemals auf den Seitenkanten der Wurzelbasen. Die ersten Blätter der Knospen scheinen stets nach rechts und links in Bezug auf das Mutterorgan gestellt zu sein.

Die Seitenwurzeln entsprechen in ihrer Anordnung den drei Xylemstrahlen; sie entstehen entweder gesondert oder zu zweien hinter einander. In den zweizähligen Gruppen ist die eine Wurzel stets viel später entstanden wie die andere und damit hängt es ohne Zweifel zusammen, dass bei der Bildung der jüngsten

---

[1]) Les organes végétatifs du *Monotropa Hypopitys*, Cherbourg 1882.

nur das Pericambium des Centralcylinders, bei der der ältesten überdies noch ein Theil der primären Rinde in Anspruch genommen wird (Fig. 49*c*).

Die Knospen stehen in manchen Fällen ohne jeden Zweifel an denjenigen Stellen, wo sich eine Wurzel hätte bilden können und, eben wie diese, entstehen sie aus dem Pericambium (*gr* Fig. 49*b*), müssen also die primäre Rinde (*cp*) durchbrechen, um nach aussen zu kommen. Da selbst die inneren Schichten der primären Rinde, welche bei der Entwicklung so lange reproductionsfähig bleiben, durchaus nicht bei der Knospenbildung in Anspruch genommen werden (*gr'* Fig. 49*b*), muss man schliessen, dass der Reiz, welcher die Knospenbildung veranlasst, erst sehr spät die Gewebe affizirt, und dieser Schluss ist besonders desshalb erlaubt, weil die Knospen in allen Abtheilungen des Pflanzen- und Thierreiches überhaupt eine ausserordentlich starke Neigung zur exogenen Entstehung zur Schau tragen.

Die Sprossungsverhältnisse der in so mancher Hinsicht merkwürdigen *Pyrola uniflora* sind durchaus mit denjenigen von *Monotropa* zu vergleichen und brauchen hier kaum weiter besprochen zu werden. Irmisch hat schon gezeigt[1]), und ich fand seine Angaben völlig bestätigt, dass die Stengelorgane dieser Pflanze sich nicht verzweigen und die Knospenbildung nur auf den Wurzeln beschränkt ist, also genau wie bei *Monotropa*. Auch bei *Pyrola* sitzen die Knospen in den Achseln von Seitenwurzeln, welche ober- oder unterhalb der Knospen stehen und auch hier finden sich sehr oft zwei Seitenwurzeln beisammen.

Ebensowenig wie *Monotropa* bringt *Pyrola uniflora* Nebenwurzeln aus ihren Stengeltheilen hervor. Wünscht man aber zu beurtheilen, auf welcher Weise die Nebenwurzelerzeugung hier stattfinden würde, wenn die Fähigkeit dazu existirte, so hat man sich nur zu der nahe verwandten *Pyrola secunda* zu wenden, um Aufschluss zu erlangen. Die Individuen dieser Art erzeugen entweder keine Wurzelknospen, oder nur eine oder zwei an der Hauptwurzel nahe beim Hypocotyl oder auf dem Letzteren, so wie an lose im Boden liegenden Wurzelfragmenten, derer letzterer Entwicklung und Stellung jedoch noch nicht zureichend festgestellt ist. Die Grenze zwischen Hypocotyl und Hauptwurzel sitzt tief unter dem Boden und ein feiner, schuppenblättertragender Spross wächst vertical nach oben. In den Achseln der Blattschuppen befinden sich Knospen, welche theilweise schon bei der Keimpflanze auswachsen, und, — was uns hier besonders interessiert — in den Achseln dieser Knospen sitzen die feinen Nebenwurzeln. Man findet hier also genau das umgekehrte Verhalten wie an den Wurzeln von *Monotropa* und *Pyrola uniflora*, und eine gänzlich analoge Erscheinung wie bei *Nasturtium sylvestre*, denn bei dieser Art sitzen ebenfalls, wie wir sahen, Knospengruppen an den Basen der Seitenwurzeln und Nebenwurzelgruppen in den Achseln der Seitenknospen. Mit kleinen Differenzen ist es genau ebenso bei *Spiraea Filipendula* und bei *Coronilla varia*, und auch anderswo werden wir dieses Verhältniss wiederfinden.

Indem ich nun zur Betrachtung der übrigen Ericaceen übergehe, habe ich noch als wurzelknospenproducirende Arten zu erwähnen: *Azalea glauca, A. nudiflora, A. Pontica* und *A. viscosa*; ferner *Gaultheria procumbens* und *Clethra alnifolia* und nach Warming auch *Pyrola clorantha*. In Bezug auf die Angaben, nach

[1]) Bemerkungen über einige Pflanzen der deutschen Flora. *Flora* 1855, pag. 625.

welchen *Vaccinium Vitis-Idaea* und *V. Myrtillus* Wurzelknospen erzeugen sollen, glaube ich, dass Verwechselungen mit unterirdischen Rhizomen vorliegen, denn diese Theile können den Wurzeln sehr ähnlich werden, und ich habe nach langem Suchen hier keine Wurzelknospen finden können.

Die obengenannte Nebenwurzelstellung von *Pyrola* scheint der ganzen Ericaceengruppe eigenthümlich, davon ein morphologischer Character zu sein. Es ist eine sehr bemerkenswerthe Erscheinung etwas oberhalb der Knospen aus den unterirdischen Sprossen von *Vaccinium Myrtillus,* wenn diese noch farblos und dünn sind, eine einzelne, wenn sie älter und durch Dickenwachsthum verändert sind, eine kurze Reihe von Nebenwurzeln aus der Rinde hervorbrechen zu sehen, und dieser Vorgang mit demjenigen bei den verwandten Arten, welche alle nach dem nämlichen Typus arbeiten, zu vergleichen. Die Vaccinien überzeugten mich zum ersten Male, dass die Knospen einen sehr wichtigen Einfluss ausüben müssen beim Zustandekommen der Nebenwurzelstellung am Stengel im Allgemeinen.

Primulaceen. *Anagallis arvensis* trägt dann und wann hypocotylische Knospen. Wydler sah in einem bestimmten Falle eine Knospe unterhalb eines der beiden Samenlappen und sieben unterhalb der anderen; diese sieben sassen in drei Reihen neben einander, drei in den mittleren und je zwei in den Seitenreihen. Wydler sagt[1]: »Es ergibt sich daraus, dass ihre Stellung völlig verschieden war von der der Blätter und Zweige dieser Pflanze, hingegen grosse Aehnlichkeit zeigte mit der reihenweisen Anordnung der Wurzelfasern vieler einjährigen Gewächse.« Andere Arten aus dieser Familie mit hypocotylischen Sprossen oder mit echten Wurzelknospen sind mir nicht bekannt.

Die Nebenwurzelstellung zeigt auch in dieser Familie vielfach interessante Beziehungen zu den Seitenknospen, *Trientalis, Soldanella, Glaux, Lysimachia* können dafür als Beispiele dienen.

§ 2. *Convolvulus arvensis.*

Die Keimpflanzen von *Convolvulus arvensis*[2]) lassen sich viel schwieriger auffinden, als wie man auf Grund der grossen Verbreitung der Pflanze erwarten würde, und für viele perenne Pflanzen im Allgemeinen und wurzelknospenerzeugenden im Besonderen gilt die nämliche Bemerkung. Dieses beruht erstens darauf, dass die Fruchtbarkeit dieser Pflanzen gewöhnlich gering ist und zweitens auf dem Fehlschlagen des Keimungsprocesses, welcher letzterer Umstand von einer innaten Schwäche der Samen herzurühren scheint, denn diese werden oft vollständig verdorben in den Samenkapseln gefunden. Inzwischen findet man nach einigem Suchen in fruchtbarem Boden stellenweise Keimpflanzen der Winde im Ueberfluss, was auf die Nachbarschaft fruchtbarer Samenträger hinweist. Bei einer genauen Betrachtung dieser Keimpflanzen (Fig. 50 Taf. IV) findet man, dass sowohl auf dem Hypocotyl wie auf der Hauptwurzel, überall zwischen den Seitenwurzeln Sprossknospen zerstreut stehen, welche anfangs kleine Beulen auf der

[1]) Ueber subcotyledonare Sprossbildung, *Flora* 1855, pag. 625.

[2]) T. Irmisch. Ueber die Keimung und Erneuerungsweise von *Convolvulus Sepium* und *C. arvensis,* sowie über die hypocotylischen Adventivknospen bei krautartigen phanerogamen Pflanzen. *Bot. Zeit.*, 1857, pag. 433.

Oberfläche bilden, da sie die primäre Rinde, worunter sie verborgen sind, nach aussen drücken. Die Hauptwurzel kann damit als wie übersäet sein, auf dem Hypocotyl sind sie seltener. Die jüngsten Knospen werden in einer ziemlich grossen Entfernung von der Wurzelspitze angetroffen und entstehen sicher nicht zu gleicher Zeit mit den Seitenwurzeln der ersten Ordnung. Sie kommen niemals ausserhalb der Seitenwurzelreihen vor, und da diese vierzählig angeordnet sind, stehen die Knospen ebenfalls in vier Linien. Auch auf den älteren Wurzeln fehlen die Knospen niemals[1]; man sieht dieselben dabei unmittelbar auf der Oberfläche sitzen, da die primäre Rinde in Folge des Dickenwachsthums entfernt worden ist. Die Knospen sitzen auf den alten Wurzeln stets in kleinen Gruppen zusammen; auffallend ist dabei, dass sich durchaus kein Zusammenhang zwischen denselben und den Seitenwurzeln nachweisen lässt, wie man auch in Fig. 50 bemerkt. Wir haben hier also einen ähnlichen Fall vor uns, wie bei manchen Rosaceen, wie z. B. bei *Rosa*, *Rubus Idaeus*, *Pyrus japonica* und anderen Arten.

Die anatomische Verbindung der Knospen mit der Mutterwurzel oder dem Hypocotyl lehrt man am Besten aus successiven Querschnitten kennen, den Bau der Knospen selbst aus Längsschnitten des Tragorganes. In Fig. 51 sieht man einen solchen Längsschnitt des Hypocotyls mit zwei Knospen abgebildet. Die Knospen sind offenbar ausschliesslich aus dem Pericambium des Centralcylinders entstanden, und selbst die Endodermis war bei deren Bildung nicht betheiligt. Die zwei ersten Blätter sind nach unten und oben gekehrt, das untere Blatt f^1 ist das älteste, dann folgt f^2, so dass hier mit einer zweizeiligen Blattstellung angefangen wird; man konnte auch sagen, dass f^1 das Deckblatt der Knospe sei, man hätte dann aber nach Analogie mit den Verhältnissen an den Stengeln f^2 auf der rechten oder linken Seite zu erwarten, und nicht nach oben gekehrt, wie in Wirklichkeit der Fall ist. Die späteren Blätter nehmen ziemlich genau die $^2/_5$-Blattstellung an. Man sieht, dass diese Verhältnisse übereinstimmen mit dem, was wir früher bei *Alliaria officinalis* gefunden haben, und es ist sehr bemerkenswerth, dass die Natur bei Pflanzen, welche so weit in ihren natürlichen Verwandtschaften von einander entfernt sind und bei einem so accessoren und seltenen Organe wie die Wurzelknospe, nach genau den nämlichen morphologischen Regeln arbeitet.

Auf einem Querschnitt des Hypocotyls bemerkt man in der primären Rinde 10 bis 20 Luftkanäle (*lk* Fig. 52, 53, 54 und 56), welche in der Innenrinde[2]) gelegen, und ungefähr circulär angeordnet sind. Nahezu sechs allmählich kleiner werdende Zellschichten trennen diese Kanäle von der sehr kleinzelligen Epidermis. Der Centralcylinder des Hypocotyls stellt sich zusammen aus acht Gefässbündeln, von welchen je zwei aus den Cotyledonen und den zwei nächst höheren Blättern herkünftig sind; man sieht aus Fig. 55 Taf. V, dass die Knospe über dem Mittelraum zweier zu einem Blatte gehöriger Gefässbündel gestellt ist, also einer der vier Blattreihen der zwei ersten Stengelknoten entspricht, das ist in der nam-

[1]) M. Malpighi war der Erste, welcher die Wurzelknospen von *Convolvulus arvensis* gesehen und abgebildet hat, Opera omnia, Ed. Lugd. Bat., 1681, pag. 147.

[2]) Die Innenrinde ist der centrifugalwachsende, die Aussenrinde der centripetalwachsende Theil der primären Rinde vieler Achsen und Wurzelorgane. Ob diese Differenz auch bei Blattstielen vorkommt, weiss ich nicht.

lichen Stellung vorkommt, worin die Nebenwurzeln entstehen. Diese Verhaltnisse bemerkt man am deutlichsten unten am Hypocotyl, denn höher (Fig. 52, 53 Taf. IV, 54 Taf. V) schliessen sich die Holztheile der 8 Gefässbündel frühzeitig zu einem einheitlichen Holzringe (*xs*) zusammen).

Am Uebergangspunkte des Hypocotyls in die Hauptwurzel schmelzen die acht von oben kommenden Gefässbündel zu vieren zusammen, in der Weise, dass je ein Cotyledonarbündel sich vereinigt mit einem Bündel, welcher aus einem Primordialblatte kommt. Die vier primären Xylemstrahlen der Hauptwurzel (*xp* Fig. 56 Taf. V) schieben sich zwischen die vier Bündel (*xs* Fig. 56) ein, und die Knospen, welche durchaus keine Veränderung in ihrer Stellung mit Bezug auf das Ganze erfahren, entsprechen an der Hauptwurzel diesen Xylemstrahlen.

Wenn die unterirdischen Knospen von *Convolvulus arvensis* durchwachsen, bilden sie Sprosse, deren Spitze revolutiv nutirt; im Boden wird natürlich jede Richtungsabweichung in ihrer Lage fixirt, so dass dadurch die Entstehung der eigenthümlich korkenzieherförmig gewundenen Rhizome, welche jedem Landwirth bekannt sind, erklärt wird. Es ist bemerkenswerth, dass sich in diesen unterirdischen Spiralen Kehrpunkte vorfinden, woraus hervorgeht, dass ihre Rotationsrichtung nicht constant ist, während die oberirdischen Sprosse constant von rechts nach links winden,' das heisst, dass deren Spitzen immer in einer, der des Uhrzeigers entgegengesetzten Richtung rotieren.

Nebenwurzeln suchte ich vergeblich bei *Convolvulus arvensis*, dieselben müssen jedenfalls nur in sehr beschränkter Anzahl entstehen. Dieses hängt damit zusammen, dass die einmal vorhandenen Wurzeln, welche oft sehr tief und wohl geschützt im Boden liegen, sehr alt werden, eine beträchtliche Dicke erreichen und die relativ wenig umfangreichen oberirdischen Theile gewiss leicht ernähren können[1]). Bei *Convolvulus Sepium* ist es dagegen sehr leicht, Nebenwurzeln zu finden; dieselben sitzen gewöhnlich in Zweizahl, je eine rechts und links, unterhalb der Seitenknospe, in der Weise, dass beiderseits aus dem Blattgrunde, die äussere Blattspur durchbohrend, eine Wurzel hervorbricht. Etwas Aehnliches lässt sich bei manchen anderen Convolvulaceen nachweisen. Die Wurzeln entstehen aus dem Perizikel des Stengelknotens, eben wie die Wurzelknospen aus dem Pericambium der Wurzel.

§ 3. *Solanum Dulcamara.*

Die vegetative Reproductionsfähigkeit dieser Pflanze ist ausserordentlich gross. Diejenigen Stengeltheile, welche dem Substrat angedrückt liegen oder sich darin befinden, sind förmlich mit Wurzelanlagen überdeckt, und die verholzten Wurzeln, welche Licht und Luft ausgesetzt sind, tragen ganze Reihen von Knospen. Bei einigen Lyciumarten kann man genau dasselbe beobachten.

Die Wurzeln von *Solanum Dulcamara*, welche ich untersuchte, waren vier-

---

[1]) Man findet gewöhnlich angegeben, dass nur die behaarten Spitzen junger Wurzeln das Wasser aus dem Boden aufnehmen, das ist aber durchaus nicht richtig, das Periderm alter Wurzeln ist oft ein ausgezeichnetes Absorbtionsorgan.

strahlig (Fig. 60 Taf. V); sie haben eine starke Neigung zum Verholzen und werfen früh die primäre Rinde weg. Die secundäre, aus dem Pericambium entstandene Rinde (*cs* Fig. 60) bildet nach aussen eine dicke Peridermschicht (*pd*) und eine parenchymatische Rinde; nach innen besteht dieselbe aus einer dicken Schicht dünnwandiger Leitzellen, welche durch das Cambium (*cb*) gebildet worden sind: die Constituirung einer neuen Endodermis oder von neuem Pericambium konnte ich nicht beobachten. Die Entstehung der secundären Seitenwurzeln der ersten Ordnung (rl_1) geschieht auf einer, der primären Seitenwurzelbildung vollständig analogen Weise. Der Centralcylinder der Neubildung (rl_1 Fig. 59 und 60) entspricht genau denjenigen Zellschichten des Mutterorganes, woraus der Centralcylinder von rl_1 entstanden ist, das heisst den Producten der inneren Theilungsschicht des primären Pericambiums. Der einzige Unterschied zwischen der primären und der secundären Seitenwurzel besteht bei unserer Pflanze nur darin, dass die Wurzelrinde und die Wurzelmütze der secundären aus tieferen Zellschichten der secundären Rinde gebildet werden, wie bei der primären Seitenwurzel. Ich muss hierbei aber bemerken, dass die secundären Seitenwurzeln schon sehr früh der Anlage nach da sind, wie besonders deutlich aus der Verbindungsweise von dem Centralcylinder derselben mit demjenigen der Mutterwurzel erhellt. Wir finden hier also einen deutlichen Fall der Abnahme der Reproductionsfähigkeit der Rinde von aussen nach innen während des Dickenwachsthums.

Die Knospen von *Solanum Dulcamara* sitzen in kleinen Gruppen von zwei bis vier rings um die Basis der Seitenwurzeln (*gr* Fig. 57 Taf. V oben in der Mitte), sie finden sich nur an alten Wurzeln und sind unzweifelhaft Producte, welche erst entstehen, nachdem die Wurzel schon durch secundäres Dickenwachsthum verändert ist. Es ist ein merkwürdiger Anblick, eine alte Solanumwurzel, welche man in feuchten warmen Sand begraben hat, sich nach kurzer Zeit überdecken zu sehen mit kleinen, schön grünen Blätterschöpfen, welche aus länglich lanzettlichen, am Rande fein behaarten Blättchen bestehen. Da sich aus den Rindenspalten der Mutterwurzel, aus welchen die Seitenwurzeln hervorbrechen, Callusbildungen entwickeln, und in manchen Fällen die Beziehung der Knospen zu diesem Callus sehr deutlich ist, glaube ich, dass man bei dieser Pflanze auch dann an Callusknospen zu denken hat, wenn die Wurzelknospen nur mit der Basis der Seitenwurzel selbst zusammenzuhängen scheinen. Das Letztere ist sehr oft der Fall, wenn der Callus klein geblieben ist, kann aber auch unter allen anderen Umständen vorkommen. Tangentialschnitte der Wurzelbasis lehren, dass solche Knospen eine nahezu symmetrische Anordnung in Bezug auf diese Basis innehalten, und oft in einem Vierecke gestellt sind; die Entwicklungszeit jeder einzelnen Knospe ist dabei aber sehr verschieden. In Fig. 62 sieht man einen solchen Tangentialschnitt abgebildet, in der Mitte ist der Centralcylinder (*cc*) der Seitenwurzel sichtbar, und die Knospen liegen mit ihren Blättern im Callusgewebe eingebettet. Eine Schwierigkeit, welche der Auffassung, die Wurzelknospen von *Solanum Dulcamara* seien Callusknospen, im Wege steht, ist darin gelegen, dass die Knospen an der Wurzelbasis, in Bezug auf die Oberfläche des Callus sehr tief entstehen, so dass die Regel, dass Callusknospen exogen oder beinahe exogen sind, hier schlecht zutrifft. Das einzige, was ich anführen kann, um diesen Einwand zu widerlegen, ist die Thatsache, dass auch diejenigen

Knospen unserer Pflanze, welche ganz sicher Callusknospen sind, ebenfalls tiefer angelegt werden wie die Knospen in den Callusbildungen anderer Arten.

Bei der anatomischen Untersuchung findet man nicht selten Knospen, welche in ihrer Stellung sehr genau den oft fehlenden secundären Seitenwurzeln zu entsprechen scheinen (*gr* Fig. 61 Taf. V unten links). Bei näherer Betrachtung ergibt sich aber, dass hier eine solche Metamorphose nicht vorliegen kann. Man findet nämlich unterhalb solcher Knospen nicht den für die Seitenwurzeln characteristischen, zwar kurzen, allein stark verholzten Centralcylinder, und die Holzverbindungen von diesem mit dem Holz der Mutterwurzel, seitlich im primären Markstrahl, sondern ein sehr feines Gefässbündel (*gf* Fig. 61), welches offenbar aus dem Parenchym der secundären Rinde entstanden sein muss, und sich vergleichen lässt mit dem Leitbündel, welches wir zwischen Holz und Knospe bei *Ailanthus glandulosa*, wo die Knospe sicher als adventiv betrachtet werden muss, kennen lernten. Ich halte es demnach für bewiesen, dass auch diese Knospen vom Nachtschatten als Callusknospen bezeichnet werden müssen, und ich komme zum Resultat, dass *Solanum Dulcamara* nur Wurzelknospen erzeugt, welche mehr oder weniger direct ihren Ursprung dem Callus verdanken, und zwar demjenigen Callus, welcher in Folge der Verwundung der secundären Rinde beim Processe der Seitenwurzelbildung entsteht. Ist diese Ansicht richtig, so muss man erwarten, dass Wurzeln von *Solanum* als Stecklinge gebraucht, auch aus dem hirnständigen Callus der Wundflächen Knospen werden erzeugen können, existirt aber, und ich halte mich davon überzeugt, ein begünstigender Einfluss auf die Knospenbildung durch die Nachbarschaft der Seitenwurzeln im Allgemeinen, so muss man weiter schliessen, dass letzterer Prozess am Lateralcallus eben durch diese Nachbarschaft gefördert werde, und desshalb hier mit grösserer Leichtigkeit zu Stande kommen wird wie an künstlichen Schnittflächen. Ich glaube aus vorläufigen Versuchen schliessen zu müssen, dass dieses auch wirklich zutrifft. Für andere ähnlich wachsende Wurzeln, wie z. B. die früher beschriebenen von *Populus alba* ist dieses sicher der Fall, hier bilden sich leichter und andauernder Knospen aus dem normalen Callus neben den Seitenwurzeln (*cl* Fig. 3 Taf. I), wie aus irgend einem willkürlichen, infolge künstlicher Eingriffe entstandenen Callus.

Die Nebenwurzelstellung der Solaneen wird am Besten characterisirt durch das Verhalten der unterirdischen Kartoffelsprosse. Man findet daran die Wurzeln in Gruppen von drei bis fünf in einer krummen Linie angeordnet, deren concave Seite der Knospe zugekehrt ist, also oberhalb und neben den Seitenknospen, und zwar diesen so viel wie möglich genähert, dergestalt, dass beide zusammen so zu sagen ein Ganzes bilden. Es scheint mir dabei besonders merkwürdig, dass die zwei niedrigsten Wurzeln der Fünfzahl entweder oberhalb des Schuppenblattes stehen, oder den Blattgrund desselben durchbohren, oder endlich gänzlich unterhalb desselben befestigt sein können. Hieraus geht deutlich hervor, dass es nicht das Blatt sein kann, welches in erster Linie die Wurzelstellung beherrscht. Da die Wurzeln durchaus nicht aus den Knospen selbst entstehen, wie bei vielen Crassulaceen, sondern aus dem Perizikel des Centralcylinders des Rhizomstengels, kann es nicht wundernehmen, dass die jungen Knollen, wenn sie bewurzelt sind, was oft der Fall ist, sehr ansehnliche seitliche Verschiebungen zwischen Knospen und Wurzeln aufzeigen können im Vergleich mit dem Verhalten an den dünnen

Rhizomen. Andere Solaneen schliessen sich vielfach der hier gegebenen Darstellung für die Kartoffel an und dieses scheint auch für manche Cyrtandraceen und Gessneriaceen zu gelten.

§ 4. *Linaria vulgaris.*

Irmisch gibt folgende Beschreibung der Adventivsprossungen von *Linaria vulgaris*[1]): »Sehr bald nach der Keimung, wenn die (ovalen oberirdischen) Cotyledonen noch ganz frisch sind, findet man zunächst auf der Grenze der hypocotylischen Achse (deren Gefässbündel deutlich getrennt und in einem Kreise gestellt sind) und der Hauptwurzel (in der die Gefässbündel bald einen centralen Holzkern darstellen) schnell auswachsende Adventivsprosse, gewöhnlich mit dreigliedrigen Blattwirteln. Sie erscheinen in der Regel in Mehrzahl (die ersten gewöhnlich in *einer* Linie mit den Keimblättern, wohl desshalb, weil hier die Gefässbündel am kräftigsten sind), und bald brechen auch aus den tiefer im Boden befindlichen Theilen der Hauptwurzel solche hervor. Die eigentliche Hauptachse zeigt ein kümmerliches Wachsthum, wird bald von den Adventivsprossen überholt und geht früher oder später in allen seinen Theilen zu Grunde, ohne dass eine axilläre Knospe an ihr übrig bliebe, durch welche die Pflanze, die ich im ersten Jahre nicht zur Blüthe kommen sah, und an der wohl auch nie die Hauptsache zur Blüthe gelangt, perenniren könnte. Zweijährige Pflanzen sah ich an einzelnen aus den Adventivknospen hervorgegangenen Stengeln zur Blüthe kommen; an ihnen war auch noch die Hauptwurzel vorhanden, die übrigens nicht stark geworden war. Sie hatte sehr viele und oft einen Fuss lange, auf der Oberfläche weisse Nebenwurzeln getrieben, von denen manche nahe unter der Bodenoberfläche hinliefen. Aus allen diesen Wurzeln pflegen sich, obschon sie kaum eine halbe Linie stark sind, die mit kleinen Blättern versehenen (sie bilden im Herbst oft eine kleine Rosette) Adventivsprosse zu entwickeln. Es treten aber auch an den Stengeltheilen, soweit sie im Boden stehen, perennirende Axillarknospen auf; eigentliche Ausläufer habe ich nicht gesehen.« Auch viele andere Autoren haben die eigentümliche Verzweigung von *Linaria* bemerkt, niemand hat darüber aber etwas Besseres gesagt wie Irmisch.

Eine Keimpflanze mit sechs hypocotilischen Knospen sieht man in Fig. 63 Taf. V abgebildet, durch die Ziffern 1—6 werden diese Knospen angegeben; die Cotyledonen sind sofort kenntlich an deren eigenthümlichen Spitze — das lange im Samen verharrende »Saugorgan«. Die Blattstellung an den Adventivachsen beginnt, wie man sieht, mit einem dreigliedrigen Wirtel, ein Blatt dieses Wirtels ist von der Hauptachse abgekehrt und kann desshalb, seiner Stellung nach, als das Deckblatt der Adventivachse betrachtet werden, übrigens sehe ich für diese Auffassung keinen Grund. Eine bestimmte Stellung der Sprosse am Hypocotyl habe ich, im Gegensatz zu Irmisch, nicht nachweisen können: wären die Knospen an der Spitze der Hauptwurzel befestigt, so würde man auf Grund der Analogie mit den Wurzelknospen, worauf ich unten zurückkomme, mit einem gewissen Rechte erwarten können, dass sie vierreihig angeordnet sein sollten, beobachtet habe ich dieses aber nicht.

[1]) *Botanische Zeitung*, 1857, pag. 467.

Abweichend von dem, was wir bei anderen Pflanzen gefunden haben, entstehen die hypocotylischen Knospen bei *Linaria* exogen. Bei den älteren Knospen bekommt man zwar bisweilen den Eindruck, dass die Epidermis sich nicht an der Knospenbildung betheiligt hat (*2* und *3* Fig. 64), bei anderen Knospen findet man aber für diese Annahme keinen genügenden Grund.

Querschnitte des Hypocotyls, welche zugleich die Knospe treffen (Fig. 65 und 66 Taf. V links und rechts in der Mitte), zeigen, dass alle Gewebesysteme des ersteren continuirlich in die des letzteren übergehen, so dass die Entwicklung der Adventivknospen jedenfalls sehr frühzeitig, nämlich, wenn das Mutterorgan noch nicht verholzt, und die primäre Rinde desselben noch meristematisch ist, zu Stande kommen muss. Wäre das Letztere nicht der Fall, so müsste sich nachträglich in der Mutterachse eine Gefässbündelverbindung zwischen den beiden Centralcylindern differenzirt haben, welche, wie uns schon aus anderen Beispielen bekannt ist, — ich erinnere in dieser Beziehung an *Rosa pimpinellifolia* und *Ailanthus glandulosa*, — ein ganz anderes Aussehen erlangt haben würde wie hier. Eine solche Verbindung nämlich besteht anfangs nur aus einem feinen Holzbündel, zu welchem sich zwar später neue Bündel addiren, die aber niemals zur Bildung eines Centralcylinders führen, welcher, als wäre es durch Dichotomie, wie im vorliegenden Falle, aus demjenigen der Mutterwurzel entstanden zu sein scheint.

In Uebereinstimmung mit der wirtelig-dreizähligen Anfangsstellung der Blätter lassen sich im Centralcylinder der Basis der Seitensprosse (Fig. 65 und 66) drei Gefässbündel nachweisen, welche sich aber spalten, bevor sie mit Centralcylinder des Hypocotyls zusammenschmelzen. In Bezug auf die Anzahl der Adventivknospen, welche ein einziges Hypocotyl erzeugen kann, muss bemerkt werden, dass man zwischen den mit freiem Auge sichtbaren (*1, 4, 5, 6* Fig. 63) mit der Lupe oft noch sehr kleine, wie rudimentär gebliebene Knöspchen (*2, 3*) bemerkt, deren Entwicklung schon gehemmt wurde zur Zeit, als sie nichts mehr wie undifferenzirte Vegetationskegel waren. Es ist bemerkenswerth, dass diese kleinen Knospen eine sehr verschiedene Grösse erlangen können, ehe sie zur Ruhe kommen.

Die Wurzelknospen von *Linaria vulgaris* zeigen manche Verschiedenheiten im Vergleich mit dem, was wir bei anderen Arten gefunden haben, in einem wichtigen Punkte stimmen dieselben jedoch mit der Mehrzahl überein, nämlich darin, dass sie sich an der Basis von den Seitenwurzeln befinden. Hier ist das Verhalten so offen und klar, dass ich mich darüber wundere, in der Litteratur nirgends das gewiss interessante Factum konstatirt zu finden. Wenn die Wurzeln so günstig als möglich wachsen, und ihre Maximalproduction an Knospen erzeugen, findet man deren vier rings um die Seitenwurzeln gestellt, an den meisten Ansatzstellen der Seitenwurzeln ist diese Zahl aber viel beschränkter. Wachsen diese Knospen zu Sprossen aus, so erhält das Ganze ein Aussehen wie Fig. 67; hier sieht man rings um die Basis einer der Seitenwurzeln vier ungleich lange, beblätterte Zweige, welche eine diagonale Stellung in Bezug auf die Mutterwurzel besitzen, die Seitenwurzel steht im Mittelpunkte des Sprossvierecks; an den übrigen Wurzelbasen ist die Sprosszahl in der beigegebenen Figur geringer, die Stellung der Sprosse schwankender. Ein vollständiges Fehlen der Knospen

habe ich bei keiner einzigen von mir untersuchten Seitenwurzel feststellen können. Es ist hier also gerade umgekehrt, wie mit den Blattachselknospen an den Vegetationsorganen von *Linaria vulgaris*, diese fehlen in weitaus den meisten Blattachseln gänzlich[1]). Wenn zwei Knospen neben der Wurzelbasis vorhanden sind, ist deren Stellung gewöhnlich auch in einer diagonalen Linie, worin dann die beiden einander in Bezug auf die Seitenwurzel gegenübergestellt sind (Fig. 70). Ist nur eine einzelne Knospe gegenwärtig, so finde ich die Stellung derselben ziemlich genau auf der linken oder rechten Seite der Seitenwurzel in Bezug auf die Längsachse der Mutterwurzel.

Die Wurzeln von *Linaria* scheinen immer zweistrahlig zu sein, ich fand wenigstens keine anderen. Ihr secundäres Dickenwachsthum ist langsam und mässig; die primäre Rinde wird nicht abgeworfen, und die Zellen der letzteren bekommen radiale Theilwände, wodurch sie der Dehnung des Innern Folge leisten können. Die Seitenwurzeln sind zweireihig angeordnet, den primären Xylemstrahlen entsprechend; ihre Entwicklungsgeschichte ist die normale, breite primäre Markstrahlen werden unter denselben aber niemals gebildet und da auch secundäre Markstrahlen fehlen, bekommt der Holzcylinder zuletzt eine so homogene Structur, dass es schwierig ist, darin die zwei Gefässplatten nachzuweisen. Da die Gefässplatten in den Seitenwurzeln in Bezug auf die Mutterwurzel nach oben und unten fallen, befinden sich die gesammten Verzweigungen der Linariawurzeln in einer einzigen ebenen Fläche. Diese Bemerkungen sind besonders desshalb von Wichtigkeit, weil daraus hervorgeht, dass die Wurzelknospen nicht als metamorphosirte Wurzelanlagen betrachtet werden können, denn wäre dieses wohl der Fall, so hätte man offenbar die Knospen nicht in diagonaler Stellung in Bezug auf Seiten- und Mutterwurzel zu erwarten, wie dieses wirklich zutrifft (*gr* Fig. 70), sondern median.

Die Entwicklungsgeschichte der Wurzelknospen ergibt sich aus der Betrachtung der Figuren 68 und 69, welche zwar ziemlich alten Wurzeln mit ruhenden Knospenanlagen entlehnt sind, die histologischen Structurverhältnisse aber nicht weniger deutlich darthun, wie die früheren Entwicklungsphasen. Die Knospen (*gr*) sind in Bezug auf die in der primären Rinde (*cp* Fig. 68 und 69) der Mutterwurzel verborgenen Seitenwurzelbasis vollständig exogen, so dass sie nur aus der primären Rinde (cp^2) dieser Letzteren entstehen; dieses wird besonders deutlich angezeigt durch die Tangentialschnitte (Fig. 68) der bezeichneten Stelle. Aus den Querschnitten der Mutterwurzel (Fig. 69), welche zu gleicher Zeit Seitenwurzel und zugehörige Knospen treffen, ist aber ersichtlich, dass man mit beinahe demselben Rechte würde behaupten können, die Knospen (*gr*) entstehen rings um eine Seitenwurzel aus der Oberfläche des Centralcylinders der Mutterwurzel, allein die erstere Betrachtungsweise ist ohne Zweifel die richtigere. Verfolgt man den anatomischen Ursprung der Gewebe mehr in Einzelheiten, so findet man, dass eine noch genauere Präzisirung des Ursprungs der Knospen möglich ist, und dabei lassen sich verschiedene Fälle unterscheiden. Bei einer ersten Reihe der von mir untersuchten Objecte fand ich, dass die primäre Rinde

[1]) Nebenwurzeln scheinen an den Stengeln von *Linaria vulgaris* überhaupt nicht vorzukommen.

(*cp*[2]) der Seitenwurzel bei unserer Pflanze nur aus dem Pericambium der Mutterwurzel, und zwar aus der äusseren der beiden Zellschichten, welche daraus durch die erste Theilung hervorgehen, entsteht. In der ganzen secundären Rinde (*cs*[1] Fig. 69) der Linariawurzel kann man selbst im erwachsenen Zustande leicht eine Grenzlinie nachweisen, durch welche auch an allen übrigen, keine Seitenwurzeln erzeugende Stellen, die Producte der beiden genannten Zellschichten in deutlich sichtbarer Weise getrennt sind. In einer anderen Reihe von Fällen entstand die gesammte primäre Rinde der Seitenwurzel aus der Endodermis der Mutterwurzel, und die Knospen waren dabei dann natürlich ebenfalls auf die Endodermis zurückzuführen. Schliesslich sah ich Seitenwurzeln, bei deren Entstehung auch noch ein oder zwei ausserhalb der Endodermis gelegenen Schichten der primären Mutterwurzelrinde betheiligt gewesen waren. Ich bin dabei zur Ansicht gekommen, dass dieser Unterschied abhängig ist von dem Lebensalter der Mutterwurzel zur Zeit der Wurzelanlage, je früher letztere zu Stande kommt, desto mehr ist die primäre Rinde noch fähig, Material für die Bildung der neuen Organe abzugeben, schliesslich verliert sie diese Fähigkeit, und dann kann nur das Pericambium die Reproduction besorgen. Auch in manchen anderen Fällen habe ich eine ähnliche von aussen nach innen fortschreitende Abnahme der Reproductionsfähigkeit beim Aelterwerden eines Organes bemerkt.

Die Art und Weise, wie sich der Centralcylinder der Seitenwurzel an denjenigen der Mutterwurzel ansetzt, ist aus Fig. 69 ersichtlich. Ein breites Bündel stark verholzter Tüpfeltracheiden verbindet sich in horizontaler Richtung mit den vertical verlaufenden Holzelementen der Mutterwurzel. Diese Bemerkung scheint mir desshalb von Interesse, weil die erste Anlage von Knospen aus der Seitenwurzelbasis noch sehr spät erfolgen kann, und der verholzte Seitenwurzelkern (*kw* Fig. 69) dann als ein sehr geeignetes Intermediär betrachtet werden muss, um den Wasserstrom der Mutterwurzel in die Knospe zu führen. Auf andere anatomische Details des Wurzelbaues näher einzugehen, scheint mir überflüssig.

Betreffs des Vorkommens von Wurzelknospen bei anderen Scrophulariaceen ist mir Folgendes bekannt.

Vorerst gibt es eine Reihe von Linariaarten, welche mit *Linaria vulgaris* übereinstimmen, diese sind *L. Broussonetii*, *L. triphylla*, *L. supina*, *L. alpina*[1]) und *L. striata*, von welcher letzteren Art Royer sagt, dass die Hauptachse frühzeitig abstirbt und durch einen Adventivspross ersetzt wird. Bernhardi bildete eine Keimpflanze von *Linaria arenaria* ab, bei welcher sich ein Spross auf der Grenze zwischen Hauptwurzel und Hypocotyl vorfand[2]). Ferner hat Wydler hypocotylische Knospen gefunden bei *Linaria minor* sowie bei *Antirrhinum Orontium* und *A. majus*[3]), deren zwei erste Blätter, wie wir schon mehrfach bei Wurzelknospen gesehen, nach oben und unten in Bezug auf das Hypocotyl gestellt waren. Schliesslich werden von Winkler ausser bei einigen der schon oben genannten Arten noch hypocotylische Knospen erwähnt bei *Linaria arvensis*,

---

[1]) Braun, Hypocotylische Knospen. *Sitzungsber. der naturf. Gesellsch. zu Berlin*, 19. April 1870, *Bot. Zeit.*, 1870, pag. 438.

[2]) *Linnaea*, 1832, Bd. 7, pag. 572.

[3]) *Flora* 1850, pag. 337.

L. genistaefolia und *L. italica*[1]. Die Wurzelknospen von *Paulownia imperialis* wurden von Trécul untersucht[2]; er sagt, dass man bei einer genauen Betrachtung sehen kann, dass die Knospen hier entweder rings um die Basis abgestorbener, oder beim Ausreissen der Wurzeln abgebrochener Seitenwurzeln entstehen, oder aus dieser Basis selbst hervorgehen, in welchem letzteren Falle das Unterende der Knospe nach Trécul vollkommen die Structur einer Wurzel besitzt.

Auch viele Orobanchen besitzen Wurzelknospen, welche ich nun gesondert besprechen will.

§ 5. *Orobanche Galii.*

Die perennirenden Orobanchen erzeugen im Boden dicke, fleischige Wurzeln, deren primäre Rinde empfindlich für Berührungsreize mit den Wurzeln der Nährpflanze, oder, genauer ausgedrückt, empfindlich für chemische Reize, ausgeübt durch von diesen Wurzeln ausgesonderten Stoffen, zu sein scheint. Wie dieses sein mag, so viel ist sicher, dass wenigstens bei *Orobanche Galii* an denjenigen Stellen, wo eine Orobanchewurzel zufälligerweise mit einer Galiumwurzel in Contact kommt, aus der primären Rinde der ersteren eine Wucherung entsteht, welche beim Weiterwachsen die Galiumwurzel umfassen und einschliessen und ein wahres Haustorium bilden kann, wodurch die Nährwurzel ausgesogen wird[3]. Diese Haustorien sind die bevorzugten Stellen für die Bildung neuer Wurzeln und von Wurzelknospen; die letzteren habe ich aber auch an anderen Stellen der Wurzeln angetroffen, wo keine Haustorien bemerkbar waren. Die Art und Weise, auf welcher die Knospen und Wurzeln sich aus den Haustorien bilden, stimmt gänzlich überein mit dem nämlichen Processe bei der Keimung. Für diesen letzteren Vorgang zeigte Caspary[4], dass die fadenförmigen Wurzeln, sobald sie eine Wurzel der Nährpflanze gefunden haben, sich mit ihrer Spitze gegen die Oberfläche derselben anstemmen, und, dass bald darauf eine starke Anschwellung der Keimwurzel entsteht; die Spitze des Keimlings ist dann noch dünn und bleibt lange in der Samenschale eingeschlossen. Als Reaction der Einbohrung des Senkers, welche die Orobanchenkeimlinge in die Nährwurzeln senden, bildet sich an den Wurzeln von *Trifolium pratense*, worauf *Orobanche minor* parasitirt, ein Ringwall rings um die genannte Anschwellung des Parasiten, bei *Cannabis sativa* mit *Orobanche ramosa* geschieht dieses nicht, sondern ein Theil des Gewebes der Nährwurzel stirbt ab. Sobald der Keimling einige Millimeter gross geworden ist, entstehen zuerst aus der angeschwollenen Basis, später allmählich weiter und weiter nach oben strahlenartig angeordnete Wurzeln, welche sich zuerst in horizontaler Richtung ausbreiten, und wodurch der ganze Keim die sogenannte »Morgensternform« annimmt. Die Wurzeln beider Arten können

[1]) Hypocotylische Sprosse bei Linaria etc. *Verhand. d. Bot. Ver. d. Prov. Brandenburg*, Bd. 22, p. 1—5, 1884.

[2]) *Annales des sc. natur.*, 1847, T. 8, pag. 272.

[3]) H. Solms Laubach hat die anatomischen Verhältnisse, welche hierbei in Betracht kommen, meisterhaft beschrieben und abgebildet in seiner interessanten Abhandlung: Ueber den Bau und die Entwicklung parasitischer Phanerogamen. *Pringsheim's Jahrbücher*, Bd. VI, 1868.

[4]) R. Caspary, Ueber Samenkeimung, Species und Nährpflanzen der Orobanchen, *Flora* 1854, pag. 577.

neue Haustorien bilden, ob dazu die Berührung mit Wurzeln der Nährpflanze nöthig ist, weiss ich nicht, ebensowenig ist mir bekannt, was aus den Haustorien später werden kann. Für die Wurzeln von *O. galii* (*ow* Fig. 71 Taf. VI) habe ich, wie schon angeführt, die Nothwendigkeit einer solchen Berührung mit den Galiumwurzeln (*gw*) für die Haustorienbildung, wie ich glaube sichergestellt, und bei dieser Art konnte ich gleichfalls das weitere Schicksal der Haustorien verfolgen: sie können Knospen erzeugen.

Bei der Verwachsung dieser Haustorien mit den Nährwurzeln sieht man die ersteren mehr und mehr anschwellen, wobei sie zuletzt eine Mittellinie von zwei cM. erreichen können. Gewöhnlich findet die Knospenbildung darauf statt in einem Stadium, als sie noch jung sind; ob die alten Haustorienknollen noch Knospen bilden können, weiss ich nicht, dieses scheint mir aber nicht unmöglich, da die Knollen perenniren, und oft neben den abgestorbenen Resten des vorjährigen Blüthensprosses einen neuen Blattspross tragen. Es kommt auch vor (Fig. 72 Taf. IV), dass man die jungen Parasiten unmittelbar aus einer Orobanchewurzel entstehen sieht, ich fand dabei aber stets an der Stelle, wo die Knospe stand, eine Galiumwurzel, welche im Gewebecomplex aufgenommen, und deren Grenze in Bezug auf das Gewebe des Parasiten unkenntlich geworden war. Es ist überhaupt sehr schwierig, in den Verbindungsstellen zu entscheiden, wo die Nährpflanze aufhört und der Parasit beginnt; offenbar ist die Verwandtschaft der hier in Betracht kommenden heterogenen Gewebe ausserordentlich gross, und führt zum Schlusse, dass auch in dem nämlichen Organismus aneinander grenzende, augenscheinlich nur wenig verschiedene Gewebe in der Wirklichkeit sehr verschieden sein können.

Ich sagte schon oben, dass die Weiterentwicklung der Haustorien übereinstimmt mit der Entfaltung des Keimlinges. Eben wie bei dem Letzteren aus der basalen Anschwellung die sternartig gestellten Wurzeln hervorsprossen, so ist es auch bei den Haustorien, welche sich übrigens auch in anderen Hinsichten am besten mit der Anschwellung des Keimlings vergleichen lassen. Selbst die Entwicklung der Knospe scheint in den zwei Fällen viel Analoges zu haben Inzwischen muss ich dieses mit Vorbehalt sagen, da ich nicht genau weiss, wie sich an der Spitze des Keimlings der Knospenvegetationspunkt bildet, im Besondern weiss ich nicht, ob dieser frühzeitig oder spät angelegt wird[1]). Die Knospenanlage aus den Haustorien ist beinahe exogen, nur einzelne Korkzellschichten betheiligen sich nicht daran; ich zählte deren z. B. vier, diese bilden dann später einen kleinen Ringwall, welcher die Knospe circular einschliesst. Beim Weiterwachsen entstehen die Blätter anfangs in decussirter Stellung an den Knospenachsen.

Die Wurzeln von *Orobanche galii* (Fig. 73) sind drei- bis fünfstrahlig; die Grenze zwischen primärer Rinde und Centralcylinder ist sehr undeutlich, und so ist es ebenfalls in Bezug auf die Producte des secundären Dickenwachsthums. Die primäre Rinde (*cp*) ist sehr dick und erfährt viele Zelltheilungen beim

---

[1]) Wahrscheinlich sehr früh. Koch's Untersuchung der Entwicklungsgeschichte des Keimlings, *Pringsheim's Jahrbücher*, Bd. XI, p. 218, lässt diesen Punkt unentschieden.

Anschwellen des Centralcylinders (*cc*). Die Haustorien (*hs*) entstehen exogen aus der primären Rinde, und entsprechen, wie ich glaube, immer den Siebtheilen des Centralcylinders; dieses ist ziemlich leicht festzustellen, weil beim Dickenwachsthum stark entwickelte Markstrahlen in der Richtung der primären Xylemstrahlen auftreten.

Die Wurzeln, sowohl diejenigen, welche sich aus den Haustorien bilden, wie die später aus der Basis der Knospe hervorsprossenden (*ra* Fig. 71 und Fig. 74) sind eben wie die Knospen beinahe exogen; [1]) ich zählte im Gewebekragen rings um die Wurzelbasis, welcher aus der durch die Wurzeln durchbohrten Rinde (cp^1 Fig. 74) des Mutterorganes entstanden war, nur zwei Zellschichten. Directe Wurzelbildung aus anderen Wurzeln habe ich nicht beobachten können. Dagegen können sich, wie schon gesagt, aus der Wurzeloberfläche, ohne dass zuvor Haustorien entstanden sind, Knospen bilden; diese scheinen immer, eben wie die Haustorien selbst, in ihrer Stellung mit den Siebbündeln übereinzustimmen.

Die Haustorien gleichen sowohl in ihrer Structur, wie in ihrer starken Reproductionsfähigkeit dem Wundcallus. Ist dieser Vergleich richtig, so müsste der Einfluss der Berührung, in deren Folge das Haustorium entsteht, sich mit einem Verwundungsreize vergleichen lassen. Da es nun, wie schon im Anfang dieses Paragraphen hervorgehoben, sehr wahrscheinlich ist, dass die Berührungsreize, wenigstens im vorliegenden Fall auf die Einwirkung bestimmter chemischer Stoffe, welche durch die Nährpflanze abgesondert werden, zurückzuführen sind, so scheint die Hypothese, dass jede Callusbildung verursacht wird durch gewisse Stoffe, welche in das callusbildende Gewebe ausgegossen werden, einigermassen annehmlich. Man würde sich dann dabei vorstellen müssen, dass der Reiz infolge dessen der Callus entsteht, als unmittelbare Ursache der Absonderung dieser Stoffe fungirt.

§ 6. *Nebenwurzelstellung und Wurzelknospen bei den Labiatifloren und Contorten.*

In Bezug auf die Nebenwurzelstellung der Scrofulariaceen muss ich bemerken, dass die nodale Stellung dabei weitaus überwiegt, und dass die Regel des Zusammenhanges zwischen der Knospen- und der Wurzelstellung sich in dieser Familie so vielfach bewährt, dass auch hier an deren Richtigkeit kaum gezweifelt werden kann. Selbst wenn die Wurzeln normaler Weise internodial angeordnet sind, werden unnatürliche Umstände bisweilen die Ursache, dass die Knospe ihren Einfluss gelten lassen kann. So erzeugen die im Wasser hängenden Sprossen von *Linaria Cymbalaria* Wurzeln in den Knospenachseln, während die Luftzweige der Pflanze nur zahlreiche Nebenwurzeln auf den Stengelgliedern tragen. Bei *Solanum Dulcamara* kann man das Nämliche beobachten. Ich halte es für wahrscheinlich, dass auch *Linaria vulgaris*, wenn es gelingt, aus deren Sprossen Wurzelbildung hervorzurufen, ihre Wurzeln blattachselständig erzeugen wird.

---

[1]) Für die einjährige *Orobanche speciosa*, welche auf *Vicia Faba* parasitirt, hat L. Koch das Nämliche gefunden. Untersuchungen über die Entwicklung der Orobanchen, *Ber. d. d. bot. Ges.*, Bd. I, 1883, p. 200.

Besonders in der Gattung *Veronica* findet man viel Verschiedenheit in der Nebenwurzelstellung, inzwischen sind bei den wasserbewohnenden Arten, wie bei so vielen anderen Wasserpflanzen, blattachselständige Wurzeln gemein. Bei *Veronica Anagallis* untersuchte ich deren Entwicklung; sie entstehen aus dem Perizikel und befinden sich je zwei rechts und links in einer horizontalen Linie neben der Seitenknospe, also ungefähr in der nämlichen Anordnung wie bei *Cochlearia Armoracia*, deren Wurzeln aber, wie wir gesehen haben, exogen sind. Bei *Veronica Beccabunga* können bis zu zwölf nodale Wurzeln vorkommen, welche, indem sie rings um den Knoten angeordnet sind, den Einfluss der Knospe weniger deutlich bezeichnen. Für *Veronica Buxbaumii* sagt Clos[1]: »Pseudorhizes axillaires solitaires, ou géminées d'un côté ou des deux côtés du bourgeon.« Bei *Gratiola officinalis* sitzen die Wurzeln entweder zur Seite und im Niveau der Blattschuppen oder unterhalb derselben, und so ist es in anderen Fällen.

Auch die *Labiaten* bieten viel Verschiedenheit in ihrer Nebenwurzelstellung dar. Obschon die Ausnahmen zahlreich sind, glaube ich, dass man als Hauptregel für diese Familie stellen kann, dass die Rippen der vierseitigen Stengel, die am Meisten activen rhizogenen Gewebe führen; etwas weniger bevorzugt wie die Rippe ist die ganze Umgebung der Seitenknospe, aus welchen beiden Umständen folgt, dass die Wurzeln an den Rippen im Niveau der Knospen am meisten gehäuft sein müssen. So ist es denn auch wirklich. Bei *Lamium album* und *L. purpureum* stehen z. B. an den unterirdischen Sprossen gewöhnlich zu jeder Seite der Knospe zwei oder drei Wurzeln, während die Wurzeln unterhalb der Blattinsertion viel seltener werden oder gänzlich fehlen. Dazu kommt nun noch bei vielen Arten eine Wurzel oberhalb der Knospe wie bei *Melissa officinalis*, *Thymus serpyllum*[2]). Am wenigsten für die Wurzelbildung geeignet sind die zwischen den Blattpaaren gelegenen Seitenflächen; Wurzeln finden sich daran nur auf dem Niveau der Knospen einander diametral gegenüber. Die sechzehn Wurzeln eines Knotens von *Lycopus europaeas*, — mehr als sechzehn würden darauf keinen Raum finden können, — sitzen folgendermassen: Eine dünne Wurzel oberhalb jeder Knospe, eine dicke und zwei dünne aus den Stengelkanten hervorsprossende Wurzeln jederseits der Knospe in einem kleinen Dreieck, mit schief nach der Knospe aufsteigender Basis, in welchem Dreiecke die dickere Wurzel von der Knospe am meisten entfernt ist, endlich, auf der Mitte der beiden knospenfreien Stengelseiten eine dünne Wurzel[3]).

Mit der Erwähnung noch eines einzelnen, auf *Betonica* bezüglichen Beispieles muss ich hier meine dürftige Betrachtung der Labiatennebenwurzeln beschliessen.

Die jungen Pflanzen von *Betonica officinalis* besitzen bekanntlich eine alternirende Blattstellung; unterhalb der Rückenlinie jedes Blattes stehen gewöhnlich

---

1) Racines caulinaires, sep. pag. 45.

2) Die nicht seltenen blattachselständigen Wurzeln von *Mentha sylvestris*, *M. sativa*, *M. rotundifolia*, *Nepeta Cataria* und anderen Labiaten, scheinen unter Umständen die Knospen vertreten zu können, eben wie bei manchen Crassulaceen und Cruciferen.

3) Eine Figur, welche mit dieser Beschreibung beinahe vollständig übereinstimmt, bei Irmisch. Die Keimung, die Wachsthums- und Erneuerungsweise einer Reihe einheimischer Arten aus der natürlichen Pflanzenfamilie der Labiaten. Halle 1856. Fig. 35, Taf. III.

zwei Nebenwurzeln, bisweilen, etwas nach rechs oder links in Bezug auf den Mittelnerven nur eine einzelne. »An den Achsen mit decussirten Blättern stehen die Nebenwurzeln in der Regel unter der Stelle, wo die Blätter eines Paares mit ihren Ansätzen an einander stossen, nicht selten auch an den stumpfen Kanten der höchstens 3—4 Linien dick werdenden Grundachsen«[1]).

Ajuga reptans bildet an abgeschnittenen Wurzelstücken ziemlich leicht Callusknospen. Vergeblich versuchte ich dagegen die Wurzelknollen von *Phlomis tuberosa* und *P. americana* zur Knospenbildung zu bringen.

Normale laterale Wurzelknospen sind nur bei einer einzigen Labiate bekannt, nämlich bei *Ajuga genevensis*. Auch hier ist Irmisch wieder der Einzige, welcher davon eine gute Figur gegeben hat[2]). Die Knospen, welche schon an den Keimpflanzen vorkommen, sitzen in den Seitenwurzelreihen, aber nicht in den Achseln von Seitenwurzeln, sie stimmen also wahrscheinlich mit denjenigen von *Convolvulus arvensis* überein. Ich selbst konnte dieselben nicht untersuchen; sie wurden von Braun entdeckt und zuerst von Schultz[3]) beschrieben.

Bignoniaceen. Die Wurzelknospen von *Catalpa syringaefolia* und *Tecoma radicans* wurden von Trécul untersucht[4]); in Bezug auf letztere Art sagt er, dass die Knospen besonders rings um die Seitenwurzeln entstehen und zwar auf deren Basis, sind die Wurzeln durch irgend eine Ursache zerstört, dann entstehen die Knospen nach Trécul aus der Hirnfläche des zurückgebliebenen Restes oder aus einem Callus welcher sich an der Stelle des abgestorbenen Organs aus den benachbarten lebenden Geweben gebildet hat. Da Trécul der Erste ist, welcher dieses, wie wir gesehen haben, sehr allgemeine Verhalten bemerkt hat, gebe ich hier noch seine eigenen Worte. Nachdem er gezeigt hat, dass die Knospen von *Tecoma* an der Stelle von Seitenwurzeln aus der Tiefe der secundären Rinde der Mutterwurzel entstehen können, fährt er fort: »J'ai dit plus haut, que dans certains cas, des bourgeons se substituent à des radicelles, ou plustôt, qu'ils se développent à leur place quand celles-ci ont été détruits. . . . Quand une radicelle après avoir vécu quelque temps hors de la racine mère avorte par une cause quelconque, la partie en contact avec les agents extérieurs se détruit, et son altération se propage plus ou moins profondement dans l'écorce de la racine mère jusqu'au corps ligneux, ou même dans l'intérieur de celui ci jusqu'à la partie la plus profonde. Dans cette circonstance, il arrive le plus souvent, sinon toujours, quand on vient à bouturer la racine mère, que du tissu cellulaire se forme, remplit la cavité qui résulte de la déstruction et qu'il en naît un bourgeon ordinairement très vigoureux qui a sa base dans l'intérieur du corps ligneux, au lieux de l'avoir à la surface comme dans le cas précédent[5]). Si au contraire la radicelle n'a été détruite que jusqu'à la circonférence du cylindre fibrovasculaire de la racine mère, le bourgeon se développe sur la base persistent de cette radicelle«.

[1]) Irmisch, Labiaten, pag. 83.
[2]) Irmisch, Labiaten, pag. 91.
[3]) *Flora* 1854, N°. 24.
[4]) *Ann. d. sc. nat. Bot.*, T. 8, 1847, pag. 274.
[5]) Hier werden die Knospen gemeint, welche sich an der Stelle von Seitenwurzeln in der secundären Rinde gebildet haben.

Plantaginaceen. Während *Plantogo lanceolata* niemals Wurzelknospen erzeugt, findet man dieselben oft bei *Pl. media.*

Oleaceen. *Syringa persica, S. vulgaris, Jasminum nudiflorum* und *J. fruticosum* erzeugen Wurzelknospen. Die Nebenwurzelstellung an den unterirdischen Sprossen von *Syringa vulgaris* wird folgendermaassen durch Clos beschrieben: »Ces rejets souterrains du *Syringa vulgaris* ont des racines au dessous des bourgeons et alors souvent géminées, ou latéralement à eux, ou les surmontant, ou semblant éparses. Un examen attentif fait reconnaître que la plupart d'entre elles sont superposées en quatre rangs correspondant à ceux des bourgeons«.

Gentianaceen. In dieser Familie scheinen nur *Erythraea linariaefolia* [1]) und *Gentiana ciliata* [2]) Wurzelknospen zu erzeugen, welche in den Nebenwurzelreihen sitzen, über deren genauere Stellung mir aber keine weiteren Besonderheiten bekannt sind.

Wittrock fand nur ein Dutzend wurzelknospentragende Individuen unter mehreren tausenden untersuchten Exemplaren ersterer Art. Viele solche Thatsachen lassen sich unter den Pflanzen mit Wurzelknospen anführen, *Artemisia vulgaris, Campanula rotundifolia, Silene nutans,* sind davon Beispiele. Dieses eigenthümliche Verhalten beruht höchstwahrscheinlich auf besonderen Befruchtungsverhältnissen, durch welche die bezüglichen Individuen entstanden sind.

Die Nebenwurzeln der Gentianaceen scheinen immer nodal zu sein; ob bei deren Anordnung noch andere Gesetzmässigkeiten bemerkbar sind, ist noch nicht festgestellt.

Asclepiadeen. Die Wurzelknospen von *Asclepias Cornuti* standen mir leider nicht als geeignetes Untersuchungsmaterial zur Verfügung, und auch über die Nebenwurzelstellung, welche in dieser Familie sehr eigenthümlich zu sein scheint, kann ich nicht weiter berichten.

KAPITEL VII.

Cirsium arvense — Picris hieracioides — Aristolochia Clematitis — Morphologische Uebersicht der normalen Wurzelknospen.

§ 1. *Wurzelknospen und Nebenwurzeln bei den Campanulinen und Rubiinen.*

Campanulaceen. Royer und andere Beobachter erwähnen das Vorkommen von Wurzelknospen bei *Campanula rotundifolia;* ich selbst habe die Pflanze oft untersucht, diese Knospen aber niemals dabei bemerkt, sie müssen hier desshalb jedenfalls selten sein. Die für die Campanulaceen so characteristische Stellung der Nebenwurzeln in den Blattachseln oder neben den Seitenknospen habe ich, wie mehrere andere Autoren, bei verschiedenen Arten beobachtet. Auch manche Lobeliaceen besitzen die nämliche Nebenwurzelstellung.

---

[1]) Wittrock, Wurzelsprosse bei krautartigen Gewächsen, *Bot. Centralbl.*, Bd. XVII, 1884, Sep. pag. 10.

[2]) Irmisch, *Bot. Zeit.*, 1857, pag. 465.

Cucurbitaceen. Die Wurzelknospen von *Thladiantha dubia*[1]) sitzen an den dünnen Wurzeln dieser Pflanze in den Achseln der Seitenwurzeln, gerade als ob diese Seitenwurzeln Blätter wären, also der Mutterwurzel zugewendet. An den Knollen fand ich diese Stellung ebenfalls am Meisten, dazu kamen aber noch bisweilen einige mehrere Knospen, welche rings um die Seitenwurzelbasis standen. Ueber die Wurzelknospen an den Knollen von *Eopepon vitifolium* sind mir die Einzelheiten unbekannt.

Caprifoliaceen. In der gärtnerischen Literatur findet man angegeben, dass *Diervilla canadensis, Symphoricarpus racemosa* und *S. vulgaris*, sowie *Weigelia rosea* durch Wurzelknospen vermehrt werden können; ob bei diesen Angaben keine Verwechslung mit unterirdischen Stengeln vorliegen kann, weiss ich nicht genau. *Lonicera Xylosteum* und *Linnaea borealis* besitzen blattachselständige Nebenwurzeln.

Bei den Rubiaceen sind mir keine Wurzelknospen bekannt geworden. Ihre Nebenwurzeln besitzen eine ausserordentlich verschiedene Anordnung, welche aber gewöhnlich durch die Blattstellung beherrscht wird. Nur selten scheinen dieselben in den Blattachseln zu stehen, wie bei *Galium Cruciata*[2]).

§ 2. *Cirsium arvense.*

Wenn man die horizontal im Boden fortwachsenden Wurzeln von *Cirsium arvense* ausgräbt, so findet man zwischen den zweizeilig angeordneten Seitenwurzeln, in den Reihen derselben, zahlreiche Wurzelknospen (*gr* Fig. 75 Taf. VI). Bei einer näheren Betrachtung ihrer Stellung findet man, dass sie gewöhnlich in den Oberachseln der Seitenwurzeln, dass heisst, wenn man eine knospenerzeugende Adventivwurzel vor sich hat, dem Stamme (*rm*) zugewendet vorkommen; die übrigen Punkte der Seitenwurzelbasis sind für die Knospenbildung wie es scheint ungeeignet. Nicht alle Knospen zeigen aber diese Stellung mit gleicher Deutlichkeit, auf jeder Wurzel werden einzelne (gr^1) angetroffen, welche bei der makroskopischen Betrachtung unabhängig von Seitenwurzeln zu sein scheinen, allein ausnahmslos in den Reihen derselben stehen. In der Abbildung, welche Irmisch von der Keimpflanze gibt[3]), sieht man die Knospen schon über die Oberfläche der Hauptwurzel zerstreut entweder wohl oder nicht mit den Seitenwurzeln in Zusammenhang. Die Seitenwurzeln verzweigen sich, wie bei zweistrahligen Wurzeln Regel, in der Ebene der Hauptwurzel.

Sobald die Knospen durch die primäre Rinde brechen, zeigen sie sich als dicke, kräftige, schön roth gefärbte Organe, welche schnell anwachsen zu orthotropen, mit Blattschuppen besetzten, eine spitzige Endknospe tragenden Sprossen. Die zwei ersten Blätter an diesen Sprossen besitzen eine constante Stellung, das erste Blatt ist nämlich der Seitenwurzel zugekehrt, das zweite um 180° vom Ersten entfernt, die höheren Blätter nehmen allmählich die $^2/_5$-Stellung

[1]) Sachs, Stoff und Form der Pflanzenorgane, *Arb. d. bot. Inst. z. Würzburg*, Bd. 2, 1882, p. 704. R. J. Lynch, Les tubercules de *Thladiantha dubia, Bulletin d. Congrès Intern. d. Bot. et d'Hort. à St. Pétersbourg*, Mai 1884, pg. 197—199. Pl.

[2]) Man vergl. die Einleitung, pag. 9.

[3]) Beitrag zur Naturgeschichte des *Cirsium arvense* und einiger anderer Distelarten, Taf. 6, Fig. 1—11, *Zeitschr. f. d. ges. Naturw.*, Bd. I, pag. 193, Halle 1853.

ein. An diesen unterirdischen Stengeln bilden sich zahlreiche Nebenwurzeln (*ra* Fig. 75), welche zwar mehrentheils internodial stehen, unter welchen sich aber auch blattachselständige vorfinden, entweder eine zu jeder Seite der Seitenknospe in der Blattachsel, oder ausser diesen auch noch eine dritte unmittelbar oberhalb der Knospe.

Die Wurzelsprosse können nach dem Absterben ihrer oberirdischen Theile, aus ihrer Basis, welche im Boden lebend zurückbleibt, neue Knospen erzeugen; die Cirsiumstöcke der Wiesen sind deshalb entweder Wurzellohden oder gewöhnliche Seitenzweige; wahre Rhizome werden bei *Cirsium* nicht gefunden. Wir haben hier also das nämliche Verhalten wie bei *Epilobium angustifolium*.

Die Wurzeln von *Cirsium arvense* sind wegen des Vorkommens von Inulin als Reservenahrung sehr durchsichtig und in allen Wachsthumsperioden für die Untersuchung im lebenden Zustande geeignet, überdies sind die Zellen derselben sehr gross, so dass ihre anatomische Structur leicht festzustellen ist. Das Dickenwachsthum ist wenig erheblich, die primäre Rinde (*cp* Fig. 77) wird nicht abgeworfen, sondern folgt durch tangentiale und radiale Zelltheilungen der Dehnung des Centralcylinders. Ich zählte im Periderm drei, in der centripetalen primären Rinde sechs und in der kleinzelligen centrifugalen Rinde ungefähr zehn Zellschichten. Diese Rinde enthält oft Luftkanäle. Die Endodermis ist sehr leicht kennbar, weil sich zwischen derselben und der nächstfolgenden Schicht der primären Rinde intercelluläre, mit Gummiharz angefüllte Kanäle (*sz*) vorfinden, welche einen Inhalt von dunkelbrauner Farbe führen. Das secundäre Holz (*xs*) im Centralcylinder besteht aus zwei flachen Bändern mit weiten Netzgefässen, welche von einander getrennt sind durch die zweistrahlige Gefässplatte (*xp*) und durch breite primäre Markstrahlen. Selbst die primären Siebbündel (*sb*) sind an älteren Wurzeln deutlich erkennbar.

Die Entwicklungsgeschichte der Seitenwurzeln und der Knospen lehrt man am besten aus Längsschnitten (Fig. 76) kennen, welche geführt werden durch die kleinen Rindenbeulen (*76* Fig. 75), worin eine knospentragende Seitenwurzelanlage verborgen ist. Solche Präparate sind sehr schön und interessant. In weitaus den meisten Fällen findet man sofort, dass die Seitenwurzel, sowie die Knospe an ihrer Basis nur aus dem Pericambium der Mutterwurzeln entstanden sein kann und, dass die Endodermis sich an deren Bildung nicht betheiligt. Ort und Zeit der Entstehung der Seitenknospe sind nicht zweifelhaft, dieselben entstehen erst, nachdem die Seitenwurzeln schon angelegt sind und aus der in Bezug auf Mutterwurzel und Seitenwurzel oben morphologisch definierten Partie des Pericambiums, welche zur Zeit der Knospenbildung schon durch die bei der Wurzelbildung sich ereignenden Vorgänge affizirt sein muss. Die Gefässbündelverbindung der Knospe kommt zunächst in Bezug auf den Centralcylinder der Seitenwurzel, in deren Achsel sie sitzt, zu Stande. Hier muss ich aber bemerken, dass man bisweilen Knospen findet, welche bei ihrem Wachsthum die Seitenwurzel mitgenommen, und diese so weit ausserhalb der Rinde der Mutterwurzel gebracht haben, dass es dann den Anschein hat, als ob die Wurzel aus der Knospe entspringt, die Knospe also das primäre Product gewesen sei.

Die Querschnittsansichten (Fig. 77) sind besser geeignet wie die Längsschnitte, um die Verbindung der Seitenorgane mit dem Innern der Mutterwurzel zu beob-

achten. Erstens sieht man dabei, dass die Seitenwurzeln in dieser Hinsicht Verschiedenheiten zeigen können, in so weit einige durch Holzbündel mit den primären Gefässplatten verbunden sind, während andere nur mit dem secundären Holze zusammenhängen, und zweitens, dass bei weitaus den meisten scheinbar vereinzelt stehenden Knospen, bei welchen die Seitenwurzel nicht direct zu sehen ist, doch ein feines Holzbündel oder ein einzelnes Spiralgefäss von der primären Gefässplatte (*xp* Fig. 77) der Mutterwurzel aus in die Knospe hineinläuft. Dadurch wird angedeutet, dass die Knospen in diesem Falle entweder Seitenwurzeln ersetzen, oder zu einer rudimentär gebliebenen Seitenwurzel gehören.

An der Bildung jener selteneren Knospen und Wurzeln, welche den Eindruck machen einer sehr frühzeitigen Entstehung, scheint nicht das Pericambium allein, sondern auch die centrifugale Partie der primären Rinde betheiligt zu sein.

Nach der Beschreibung von Irmisch [1]) stimmt *Sonchus arvensis* in Bezug auf ihre Wurzelknospen genau mit *Cirsium arvense* überein.

§ 2. *Picris hieracioidis.*

An den jungen, mit einer schönen Blattrosette überwinternden Pflanzen von *Picris hieracioidis* (Fig. 78 Taf. VI) findet man eine gelblich braune Hauptwurzel, welche mit der primären, überhaupt nicht abgeworfen werdenden Rinde bekleidet ist. Die Seitenwurzeln sitzen daran meistens in zwei Reihen und unmittelbar neben denselben, entweder rechts und links oder in den Oberachseln, seltener in den Unterachseln, werden ein oder zwei Wurzelknospen gefunden, welche anfangs kleine Beulen auf der Wurzeloberfläche bilden, da sie endogen entstehen und die äusseren Schichten der primären Rinde nach aussen drücken.

Die Nebenwurzeln, welche aus dem gestauchten Stengeltheile der Blattrosette entstehen, sind zu Ende des ersten Jahres vier bis sechs an der Zahl, sie stehen in vier Reihen, wovon zwei mit der Ebene der Samenlappen und der Seitenwurzeln zusammenfallen. Ein Querschnitt einer alten Wurzel mit Seitenwurzel und zwei zu der letzteren gehörigen lateralen Wurzelknospen ist in Fig. 79 Taf. VI dargestellt. Die primäre Rinde (*cp*) besteht aus ungefähr zehn durchsichtigen Zellschichten und ist von weiten Intercellularräumen durchsetzt. Die secundäre Rinde ist ausserordentlich dick aus saftreichem Parenchym mit zerstreuten Siebbündeln aufgebaut und, besonders nahe bei der äusseren Grenze, von Milchsaftgefässen durchsetzt. Der kantige Holzcylinder bildet nur ein dünner Faden im Innern und lässt kaum mehr die primäre Structur des Centralcylinders erkennen.

Die Seitenwurzeln entstehen nicht allein aus dem Pericambium, sondern bei deren Bildung sind auch die Endodermis und zwei oder drei weitere Zellschichten der primären Rinde (*cp* Fig. 79 und 80) mit einbegriffen, also ist es auch hier, wie bei den früh angelegten Wurzeln von *Cirsium arvense*, der centrifugal wachsende Theil dieser Rinde, welcher sich an der Seitenwurzelbildung betheiligt. Die ursprüngliche Gefässplatte der Seitenwurzel lässt sich sehr leicht bis ins Innere der Mutterwurzel verfolgen, wo sie, mit der ähnlich gebauten Gefässplatte dieser letzteren verschmilzt.

---

[1]) *Bot. Zeit.*, 1857, pag. 461, Fig. 1—3. In Gelderland konnte ich diese Knospen nicht finden.

Die Knospen (*gr* Fig. 79 und 80) entstehen auf eine mit der Entwicklungsgeschichte der Seitenwurzel vollständig ähnliche Weise, das heisst aus einer Zellgruppe, welche aus dem Pericambium der Endodermis und zwei oder drei der weiter nach aussen liegenden Schichten der primären Rinde besteht. Auch in diesem Falle sind Seitenwurzel und Knospen in so engem Zusammenhang, dass an deren gegenseitigen Beeinflussung im Bildungsstadium nicht zu zweifeln ist. Und doch ist die Stellung der Knospen hier eine solche, dass man dieselben als zur Mutterwurzel gehörig betrachten muss. Bei *Cirsium* war die Verbindung zwischen Knospe und Seitenwurzel also eine mehr directe wie hier. Man erkennt dieses am besten aus den Längsschnitten, welche sich gut eignen, um die Gefässbündelverbindung (*gf* Fig. 80) zwischen Knospe und Tragorgan festzustellen und wobei man nicht nur sieht, dass die von der Knospe besetzte Stelle eigentlich zur Mutterwurzel gehört, sondern auch, dass der Verbindungsstrang (*gf*), welcher hier wie gewöhnlich aus einem feinen Holzbündelchen besteht, worin besonders Spiralgefässe und Spiraltracheïden gefunden werden, sich unmittelbar an den Holzkörper der Mutterwurzel ansetzt.

Ich glaube nicht, dass man aus der einfachen Natur dieses Verbindungsstranges Recht hat zu schliessen, dass die Knospen als metamorphosirte Wurzelanlagen aufgefasst werden müssen, denn wir haben bei *Ailanthus glandulosa* (*gf* Fig. 32) eine ganz ähnliche Verbindung zwischen Knospe und Mutterwurzel gefunden, ohne dass hier irgend ein Grund zur Annahme der bezeichneten Metamorphose vorlag; auch bei vielen Callusknospen werden ähnliche einfache Stränge, welche durch sympodiale Verwachsung der aus den Blättern niedersteigenden Gefässbündelchen entstehen, angetroffen. Man hat in diesen Gebilden überhaupt nichts anderes wie eine sehr einfache Form des Centralcylinders zu erblicken, ähnlich demjenigen der Farnkeimpflanzen, welcher ebenfalls nur ein Sympodium ist, welches aus den Blattspuren entsteht.

Anderseits konnte man geneigt sein, bei makroskopischer Betrachtung die Knospen auf Wurzelanlagen zurückzuführen, und zwar desshalb, weil bei *Picris hieracioides*, eben wie bei vielen anderen schon früher beschriebenen Arten die Seitenwurzeln, wenn sie nicht von Knospen begleitet werden, oft zwei zu zwei beisammen stehen (Fig. 78), während die knospenführenden gewöhnlich vereinzelt sind. Es ist möglich, dass diese Auffassung wirklich die richtige ist, allein es lässt sich dagegen anführen, erstens dass von den zwei Seitenwurzeln einer Gruppe beinahe immer die eine genau oberhalb der anderen sitzt [1]), während die Knospen eben so oft oben oder unten, wie seitlich gestellt sind, zweitens dass sehr oft zu einer Wurzel zwei Knospen kommen und nur sehr selten zwei Wurzeln. Ich muss deshalb die Frage, ob man die Wurzelknospen von *Picris hieracioides* als metamorphosirte Wurzelanlagen aufzufassen hat, unentschieden lassen, die Hypothese, dass diese Knospen bei weit entfernten Urahnen gewöhnlich laterale Callusknospen waren, halte ich für ebenso wahrscheinlich [2]); nur die Beeinflussung ihrer Entstehung durch die Seitenwurzel ist ausser allem Zweifel.

[1]) Die beiden Wurzeln sind, wie gewöhnlich in ähnlichen Fällen, nicht gleich alt, es kann aber sowohl die ältere, wie die jüngere oben sitzen.

[2]) Auch könnten dieselben weder das Eine noch das Andere sein, sondern eben Das — was sie sind.

Andere mir bekannt gewordene Compositen mit Wurzelknospen sind ausser den drei schon abgehandelten die Folgenden: *Carlina acaulis, Jurinea cynaroides, Inula britannica, Chondrilla juncea, Gnaphalium arenarium* und *Lactuca muralis*. Letztere trägt nur bisweilen Knospen infolge von Verwundung.

In Bezug auf die Nebenwurzelstellung der Compositen kann ich hier nicht in Einzelheiten treten, da die mir bekannten Fälle mich kaum eine andere Gesetzmässigkeit als die überall vorkommende in Bezug auf Centralcylinder und Blattstellung haben erkennen lassen. Die Sache verdient aber eine weitere Prüfung.

§ 4. *Aristolochia Clematitis.*

Ich bespreche die Wurzelknospen von *Aristolochia Clematitis* an dieser Stelle, weil ich, soviel wie thunlich, Eichler's *Syllabus* bei der Einreihung meiner Pflanzen gefolgt bin, und dieser Autor die Hysterophyten als Anhang seines Systems vorführt. In morphologischer Hinsicht stellt unsere Pflanze sich, wie wir sehen werden, in Bezug auf ihre Wurzelknospen[1]) den Santalaceen und Podostemaceen nahe, wodurch die verwandtschaftlichen Beziehungen der Aristolochiaceen mit den genannten Familien um eine vermehrt werden, nämlich die allen diesen Gruppen gemeinsame, beinahe oder vollständig exogene Entstehung ihrer Wurzelknospen aus der primären Rinde der Mutterwurzel.

Die Keimung von *Aristolochia Clematitis* ist, wenn ich nicht irre, noch niemals beobachtet, ich vermag desshalb nicht anzugeben, ob die Hauptwurzel schon Wurzelknospen trägt; die Seitenwurzeln und die Nebenwurzeln, welche ich untersucht habe, waren alle damit besetzt. Ich habe zu meiner Verwunderung durchaus keine feste Regel auffinden können, durch welche die Anordnung dieser Knospen auf der Wurzeloberfläche beherrscht wird[2]), so dass sie mit vollem Rechte als adventiv bezeichnet werden können.

Ich habe in Fig. 81 Taf. VI ein Habitusbild der verschiedenen Sprossungen, welche an den unterirdischen Theilen unserer Pflanze vorkommen können, gezeichnet. Betrachten wir zuerst den Spross *g r*, welcher sich aus einer Wurzelknospe entwickelt hat. Ganz unten finden wir daran zwei sehr niedrige, nach der Divergenz $^1/_2$ gestellten Scheidenblätter f^1 und f^2, von welchen das erste zwar oft den Eindruck macht, als sei es der Mutterwurzel (*r m*) zugewendet, allein es ist in der Wirklichkeit, wie in der Figur angegeben, dem ersten Blatte der meisten anderen Wurzelknospen ähnlich, nach unten gekehrt. Das dritte Blatt des Wurzelsprosses folgt noch gewöhnlich die $^1/_2$-Stellung, welche auch die späteren Blätter gewöhnlich beibehalten; oft zeigt aber schon das dritte Blatt eine kleine Prosenthese[3]). Knospen finden sich in den Achseln von allen Blättern selbst von den rudimentären f^1 und f^2. Sehr eigenthümlich ist es, dass die erste Nebenwurzel *(r a)* des Wurzelsprosses

[1]) Auch manche andere Aristolochiaarten können vermittelst Wurzelstecklingen vermehrt werden.

[2]) Zwar fand ich bei der anatomischen Untersuchung oft, dass die Knospen auf der rechten oder linken Seite des Radius sitzen können, welcher durch die nächstbenachbarte Gefässplatte geht (man vergleiche z. B. Fig. 83 und 85).

[3]) Die $^2/_5$-Stellung, welche dabei erreicht werden kann, scheint immer vorübergehend zu sein.

median nach vorn fällt, unmittelbar oberhalb des kleinen Knöspchens in der Achsel von f^1 (im unteren Diagramm neben Fig. 81 ist *ra* die median nach vorn fallende Nebenwurzel), während die zwei ersten Nebenwurzeln *(ra)* an den aus Stengelknospen entwickelten Zweigen *(sk)* nach rechts und links in Bezug auf das Mutterorgan stehen, in Uebereinstimmung mit den nach rechts und links gestellten zwei ersten Blättern dieser Sprosse. Man hat hier also im Grunde ein Fall vor sich, wobei die Nebenwurzelstellung mit der Anordnung der Blätter (oder möglicherweise mit derjenigen der dazu gehörigen Achselknospen) zusammenhängt. Nach dieser letzteren Bemerkung kann ich in Bezug auf die aus den Stengelorganen entstehenden neuen Sprosse kurz sein. Wir sahen schon, dass dieselben mit zwei nach rechts und links gestellten Blättern, welche hier auch nichts weiteres als Schuppenblätter sind, anfangen, und, dass unmittelbar unterhalb der letzteren die Nebenwurzeln *(ra)* sitzen (man vergleiche das obere, neben Fig. 81 gezeichnete Diagramm, worin der schwarze Punkt den Mutterstengel, die kleinen Kreise *(ra)* die Nebenwurzeln angeben). In jeder Blattachsel sitzt eine Knospe, entfaltet diese sich, so entsteht daraus ein Zweig, welcher dem Muttersspross ähnlich ist; entstehen daraus neue Nebenwurzeln, so haben auch diese wieder die vorerwähnte Stellung. Ob die Nebenwurzeln zur Entwicklung kommen können, wenn die Knospen in Ruhe bleiben, weiss ich nicht, ebensowenig ob noch andere Punkte als die Knospenbasis Nebenwurzeln erzeugen können; jedenfalls sind aber die zuletzt genannten Stellen die eigentlich rhizogenen.

Die Wurzeln von *Aristolochia Clematitis* bestehen aus einer sehr dicken primären Rinde (*cp* Fig. 83 und 84) und einem dünnen Centralcylinder, welcher vier- bis sechsstrahlig ist. Das Dickenwachsthum des letzteren ist gering, so dass die primäre Rinde bleibend ist; die secundären Holzbündel bleiben sehr lange getrennt, schmelzen aber zuletzt durch Umwandlung des Parenchyms in Holzelemente, also nicht vermittelst cambialen Dickenwachsthums, mit den primären Bündeln zusammen. Pericambium und Endodermis haben den normalen Bau, die Entwicklung der Seitenwurzeln (*rl* Fig. 84) bietet aber hier die Eigenthümlichkeit, dass von den nahezu zwanzig Zellschichten, woraus die primäre Rinde (cp^1) besteht, nur die vier oder fünf äusseren sich als nicht reproductionsfähig ergeben, während alle übrigen sich an der Bildung der primären Rinde (cp^2) der Seitenwurzel betheiligen, sodass diese als beinahe vollständig exogen betrachtet werden muss. Der Centralcylinder der Seitenwurzel entsteht aber ausschliesslich aus dem Pericambium der Mutterwurzel, und zwar, in Uebereinstimmung mit der allgemeinen Regel, aus dem hinter den Gefässplatten gelegenen Theile desselben. Die secretführenden Zellen liegen vereinzelt, oder in kurzen Reihen durch das Parenchym der primären Rinde zerstreut.

Die Entwicklungsgeschichte der Knospen lässt sich leicht verfolgen, da dieselben vollständig exogen sind und desshalb auf der Wurzelrinde in allen Entwicklungsstadien ohne Mühe aufgefunden werden können. Ich habe alle möglichen Altersstufen dieser Knospen, als wie gemischt, auf der Wurzeloberfläche beobachtet. Ob wir darin wirklich die Möglichkeit einer so regellosen Entstehung erblicken müssen, kann aus der einfachen Beobachtung nicht geschlossen werden, es ist möglich, dass eine anscheinend ganz junge Anlage schon lange geruht hat, ja selbst, dass auf einer scheinbar durchaus gleichmässigen Wurzelrinde schon längst bestimmte Zellgruppen für die Knospenbildung prädisponirt sind, obschon man

das denselben, selbst mikroskopisch, nicht ansehen kann. Wäre die letztere Hypothese zutreffend, so würde man die entferntere Ursache der Knospenbildung schon im Vegetationspunkt der wachsenden Mutterwurzel suchen können, nur die Anregung zur Entfaltung der Anlagen wäre secundär. Die Nothwendigkeit der Annahme des zuletzt bezeichneten Reizes, welcher, wie ich schon in der Einleitung hervorhob, doch wohl von der nämlichen Natur sein muss, wie die organisirenden Kräfte des Meristems, lassen es als wahrscheinlich betrachten, dass die Knospen an der erwachsenen Mutterwurzel neugebildet werden können, so dass man die ganze Oberfläche derselben als reproductionsfähig zu betrachten hat[1]).

In Fig. 85 findet man den Querschnitt einer Wurzel abgebildet, welche eine sehr junge, noch als undifferenzirter Zellhügel zu beobachtende Knospe *(gr)* trägt, und in Fig. 86 die Randpartie dieser Knospe mit einem Theile der angrenzenden, nicht an der Knospenbildung betheiligten primären Rinde der Mutterwurzel. Die dunkelschwarze, Rinde und Knospe überziehende Epidermis wird gewöhnlich durch die Knospe durchbohrt, allein bei sehr früh angelegten Knospen ist die Epidermis der Mutterrinde ein integrirender Theil der Neubildung. Die Hauptmasse des Knospenkörpers entsteht aus denjenigen zwei oder drei Zellschichten, welche der Epidermis unmittelbar angrenzen, und als Korkmeristem betrachtet werden können, noch tiefer nach dem Inneren besteht die Rinde aus Collenchym, das sich für die Reproduction weniger gut zu eignen scheint. Die Zelltheilungsfolge in den genannten Schichten ist ziemlich regellos und nur schwierig lässt sich darin die, mit der Oberfläche parallele und dazu senkrechte Stellung der Theilwände (Regel von Sachs) erkennen. Die weitere Entfaltungsgeschichte der Knospe ist die gewöhnliche und lässt sich aus der früher beschriebenen Structur des erwachsenen Productes ableiten, braucht hier also keine weitere Besprechung. Interessant ist die Entwicklung des Gefässbündelsystems, wodurch die Knospe sich später mit dem Centralcylinder der Mutterwurzel verbindet. Aus einer Betrachtung der Fig. 82, welche einen Längsschnitt einer knospentragenden Wurzel vorstellt, ergibt sich, dass die Gefässbündel der zwei ersten Blätter zu einem einzigen Bündelstrang *(gf)* verschmelzen; dieser kann sich aber bei seinem ferneren centripetalen Wachsthum gabeln, die Gabelzweige verwachsen dann zuletzt mit dem Holze des Centralcylinders der Wurzel. Wir finden hier also einen bekannten Vorgang *(Ailanthus glandulosa, Rosa pimpinellifolia, Picris hieracioides)* zurück. Die Frage, auf welcher Weise der vollständige Centralcylinder solcher Knospen entsteht, wie der Perizikel und die Endodermis desselben sich entwickeln und wie die Anschliessung letzterer Gewebe an den Centralcylinder der Mutterwurzel zu Stande kommt, sind von bedeutender anatomischer Wichtigkeit, die darauf zielende Untersuchung ist aber sehr schwierig und es war mir noch nicht möglich, damit fertig zu werden.

Bei einer Wurzel wie die von *Aristolochia Clematitis*, für welche, wie oben gesagt, nur angenommen werden kann, dass jede Zelle der Oberfläche als reproductionsfähig betrachtet werden muss, ist es ein merkwürdiger Umstand, dass eine bestimmte Zell*gruppe* gemeinsam arbeitet an der Bildung einer einzelnen Knospe,

[1]) Die beinahe exogene Entstehung der Seitenwurzeln legt es zwar nahe, die Knospen auf Wurzelanlagen zurückzuführen, allein es gelang mir nicht dafür den Beweis beizubringen.

während die nächste Umgebung dabei in Ruhe verbleibt. Es ist, als ob ein Krystallisationsprocess an einem gewissen Punkte in einem Krystallsubstanz enthaltenden Medium begonnen ist, wodurch die Nachbarschaft erschöpft wird. In diesem und ähnlichen Fällen scheint es wirklich am einfachsten anzunehmen, dass eine gewisse Substanz im bildungsfähigen Gewebe entweder schon vorkommt oder durch äussere Reize darin leicht entstehen kann, sodald diese Substanz aber in einem bestimmten Maasse vermehrt ist und dadurch zur Erzeugung der Neubildung Veranlassung gibt, wobei dann wieder irgend ein anderer von innen oder von aussen kommender Reiz wirksam sein muss, scheint dieselbe durch diese Neubildung selbst verbraucht zu werden, wodurch die Umgebung erschöpft und für eine weitere Reproduction unfähig wird.

§ 5. *Parasitische Phanerogamen und Podostemaceen.*

Dass der sogenannte Thallus der parasitischen Phanerogamen als ein Wurzelorgan betrachtet werden muss, halte ich für sicher und dieses ist auch die Auffassung vieler der älteren Botaniker gewesen, welche darüber geschrieben haben. Für die Loranthaceen liegen die Verhältnisse so offen und klar vor, dass man den Namen Thallus für ihre Saug- und Reproductionsorgane noch nicht einmal in Anwendung gebracht hat. Bei *Viscum album* ist denn auch deren Wurzelnatur unzweifelhaft. Diese Pflanze[1]) besitzt zweierlei Arten, von in der Nährpflanze eingeschlossenen Wurzeln, die »Rindenwurzeln« und die »Senker«. Die ersteren befinden sich in dem Cambium der Nähräste, die Senker zweigen sich davon in radialer Richtung ab und dringen in das Holz hinein. An der nach aussen gekehrten Seite tragen die Rindenwurzeln zerstreute Knospen, welche unabhängig von den Senkern zu sein scheinen und jedenfalls als wahre Wurzelknospen zu bezeichnen sind. Die anatomische Structur der Rindenwurzeln ist, für so weit mir bekannt, noch nicht festgestellt; man scheint darin dorsiventrale Gebilde sehen zu müssen, woraus sowohl die Senker, welche als Nebenwurzeln aufzufassen sind, wie die Knospen exogen entstehen. Die Existenz von *Viscum* ist durchaus von den Wurzelknospen abhängig. An den Keimpflanzen entstehen sie schon im zweiten Jahre als Adventivknospen, welche aus dem Gewebekragen auf der Grenze zwischen dem Hypocotyl und der primären Saugwurzel nach aussen brechen[2]).

Zahlreiche andere Loranthaceen dürften sich ganz ähnlich wie *Viscum* verhalten.

Auch viele Santalaceen tragen unzweifelhaft Wurzelknospen; bisher sind dieselben, für so weit mir bekannt, nur bei *Thesium Montanum* näher untersucht worden[3]); sie befinden sich bei dieser Pflanze auf dem Hypocotyl in den Reihen der Samenlappen und auf der Hauptwurzel, sie entstehen beinahe, jedoch nicht vollständig exogen.

Bei den Rafflesiaceen und den Balanophoraceen findet man in einzelnen Fällen sehr deutliche Wurzelknospen, bei anderen Arten sind die Reproductionserscheinungen, welche durch einen Thallus vermittelt werden, morphologisch unaufgeklärt,

---

[1]) R. Hartig, *Lehrbuch der Baumkrankheiten*, Berlin 1882, pag. 18.

[2]) F. Gümbel, Zur Entwicklungsgeschichte von *Viscum album*, *Flora* 1856, pag. 433, und 1855, pag. 335.

[3]) Irmisch in *Flora* 1853, pag. 522.

es ist jedoch auch dafür sehr wahrscheinlich, dass man in diesem Thallus eine metamorphosirte Wurzel erblicken muss.

Da wir so zu sagen bei allen Abstufungen des Parasitismus, und in den verschiedenartigsten Pflanzenfamilien, worin sich diese Eigenschaft ausgebildet hat, — ich brauche nur einerseits an die farblosen Humusbewohner wie *Neottia Nidus-avis* und *Monotropa Hypopitys*, anderseits an die echten Parasiten wie *Orobanche* und die soeben besprochenen Familien zu erinnern, — überall Wurzelknospen schon mit Sicherheit kennen oder wichtigen Grund haben, auf deren Existenz zu schliessen, scheint es mir, dass die Folgerung berechtigt ist, dass eben die Existenz von Wurzelknospen in einer Familie eine Anleitung zur Ausbildung des Parasitismus bei derselben werden kann. Nimmt man nämlich an, dass der Parasitismus im allgemeinen damit angefangen ist, dass sich an den Wurzeln der betreffenden Arten das Vermögen zur Verwachsung mit den Wurzeln anderer benachbarter Arten ausgebildet hat (man denke an die Rhinanthaceen), so muss es für die Entstehung einer vollkommen parasitären Lebensweise als ein sehr wichtiger, möglicherweise als ein nothwendiger Umstand betrachtet werden, dass sich in der unmittelbaren Nachbarschaft der Verwachsungsstelle ein Spross bilden kann.

Dass die Wurzelknospen in dem Verwandtschaftskreise der Hysterophyten, welche so reich ist an parasitischen Familien, auch bei den selbständig lebenden Formen angetroffen wird, sahen wir schon durch das Verhalten von *Aristolochia Clematitis*. Ein anderes Beispiel dafür ist die so äusserst eigenthümliche Familie der Podostemaceen, mit deren Morphologie Warming's schöne Untersuchungen[1]) uns bekannt gemacht haben. Die Verzweigung ist bei den meisten Arten dieser Familie beinahe ausschliesslich von Wurzelknospen abhängig; hier ist es desshalb diese besondere Verzweigungsform, durch welche das Habitusbild der ganzen Pflanze bestimmt wird. Die Wurzeln sind mehr oder weniger dorsiventral, sie besitzen zwei Xylembündel, welche im Centralcylinder nach rechts und links gestellt sind und nach oben einigermaassen convergiren, die Phloëmbündel sind sehr undeutlich. Die Nebenwurzeln sind, in Uebereinstimmung mit der Stellung der Xylembündel, auf der rechten und linken Seite der Wurzeln befestigt und brechen durch Spalten in der primären Rinde, welche nicht abgeworfen wird, nach aussen. Die Knospen entsprechen in ihrer Anordnung den Xylembündeln und befinden sich desshalb in zwei Reihen, welche *beinahe* mit den beiden Nebenwurzelreihen zusammenfallen. Dieses ist aber nicht genau der Fall, denn die beiden Knospenreihen stehen etwas mehr zur Rückenlinie der Mutterwurzel angenähert wie die Nebenwurzeln.

Der offenbare Zusammenhang zwischen Xylembündeln und Sprossknospenstellung ist hier besonders desshalb bemerkenswerth, weil die Knospen anatomisch durchaus unabhängig vom Centralcylinder, von dieser durch mehrere Zellenschichten getrennt, aus der primären Rinde entstehen. Sie entwickelen sich zwar endogen und müssen 2—5 Zellenschichten zerreissen, um nach aussen zu treten, allein dieses macht die Beeinflussung ihrer Stellung durch die Symmetrieverhältnisse des Centralcylinders nicht weniger merkwürdig[2]).

---

[1]) Familien Podostemaceae, *Afh. Vidensk. Selsk. Skr.* 6 R. Afd. II, 1, 1881, 2. Afh. 6 R. Afd. II, 3, 1882. Siehe auch Cario, *Bot. Zeit.*, 1881, pag. 25.

[2]) Die systematische Verwandtschaft der Podostemaceen zu den Santalaceen scheint mir besonders durch die folgenden Merkmale angezeigt zu werden: — Der Nucellus des

§ 6. *Morphologische Uebersicht der verschiedenen Gattungen der normalen Wurzelknospen.*

Am Ende meiner speziellen Betrachtungen über die Stellungsverhältnisse und den Bau der Wurzelknospen angelangt, wünsche ich hier noch eine kurze Uebersicht zu geben über die hauptsächlichsten Verschiedenheiten in morphologischer Hinsicht, welche wir dabei gefunden haben, für alle Einzelheiten muss ich auf die eingehende Behandlung selbst verweisen.

1. GRUPPE. Die Knospen entstehen aus den Aussenschichten der primären Rinde.

a) Dieselben sind in ihrer Stellung unabhängig von der Structur des Centralcylinders und scheinen durchaus regellos auf der Rinde zerstreut vorkommen zu können. Hierzu gehören *Aristolochia Clematitis* und wahrscheinlich die meisten Phanerogamen-Parasiten aus den Familien der Rafflesiaceen und Balanophoraceen.

b) Die Knospen entstehen ähnlich wie im vorigen Falle, sind aber in ihrer Stellung durch die innere Symmetrie des Centralcylinders bedingt: Podostemaceen, Loranthaceen, Santalaceen, Orobanchen.

2. GRUPPE. Die Knospen entstehen aus der Oberfläche des Centralcylinders, oder in geringer Tiefe unterhalb dieser Oberfläche.

Reihe 1. Ohne feste Symmetrie, nur eine Beeinflussung durch die Nachbarschaft des Lateralcallus auf die Knospenbildung ist bemerkbar: *Ailanthus glandulosa.*

Reihe 2. Nach festen morphologischen Regeln.

Erster Fall. Die Knospen sind durchaus unabhängig von den Seitenwurzeln, nur stehen sie in deren Reihen, also auf den primären Markstrahlen der Mutterwurzel.

a) Die Knospen können sehr spät aus dem Korkcambium entstehen: *Pyrus japonica.*

b) Die Knospen entstehen entweder spät, wie bei *Pyrus, Rosa pimpinellifolia, Rubus Idaeus, R. odoratus,* oder sehr frühzeitig und ersetzen im letzteren Fall eine Nebenwurzelanlage: *Prunus domestica, Convolvulus arvensis, Ajuga genevensis.*

Zweiter Fall. Die Knospen sind entweder scheinbar unabhängig von den Seitenwurzeln oder stehen in deren Achseln. Im ersteren Falle sitzen sie jedoch immer in den Seitenwurzelreihen und oft lässt sich nachweisen, dass bei ihrer Entstehung eine Seitenwurzelanlage in Betracht zu ziehen ist: *Alliaria officinalis, Cirsium arvense, Euphorbia Esula, Sonchus arvensis, Anemone sylvestris.*

Dritter Fall. (Hauptfall der Wurzelknospenstellung.) Die Knospen stehen rings um die Basis einer Seitenwurzel oder auf derselben, und sind in ihrer Stellung wahrscheinlich unabhängig von der Symmetrie des Centralcylinders dieser Seiten-

Ovulum verlängert sich in den beiden Familien bis in die Micropyle — beide besitzen eine Centralplacenta — die Podostemaceenkeimlinge besitzen keine wahren Hauptwurzeln, sondern einen aus Haaren bestehenden Saugapparat — die männlichen Blüthen von *Mysodendron* zeigen grosse habituelle Aehnlichkeit zu dem Androecium der Podostemaceen — in den beiden Familien ist die Wurzelknospe ein Hauptorgan für die Verzweigung.

wurzel, dagegen ist eine Bevorzugung der Oberachseln sehr oft wahrnehmbar. Dieselben müssen entweder als metamorphosirte Seitenwurzeln zweiter Ordnung *(Cochlearia)* oder als metamorphosirte secundäre Seitenwurzeln der ersten Ordnung *(Rumex)*, oder, endlich als unabhängige Neubildungen des Wurzelkernes *(Linaria)* aufgefasst werden.

a) Zu jeder Seitenwurzel gehört eine einzelne Knospe: *Epilobium angustifolium* (diese Art bildet ein Uebergang zum vorigen Fall), *Sium latifolium, Dioscorea sativa, D. japonica.*

b) Zu jeder Seitenwurzel gehören mehrere Knospen: *Scilla Hughii, Cephalanthera rubra, Picris hieracioides, Linaria vulgaris, Cochlearia Armoracia, Nasturtium sylvestre.* Bei den Wurzelsprossen von *Solanum Dulcamara* zeigt sich Analogie zu den Knospen, welche aus Lateralcallus entstehen.

c) Die Knospen stehen vereinzelt neben den Seitenwurzeln und können mit viel Wahrscheinlichkeit als metamorphosirte secundäre Wurzelanlagen der ersten Ordnung betrachtet werden: *Monotropa Hypopitys, Pyrola uniflora,* diese Arten bilden also einen Uebergang zu dem folgenden Falle.

Vierter Fall. Eine oder mehrere Knospen stehen unmittelbar oberhalb oder unterhalb einer Seitenwurzelbasis, dieselben entsprechen ohne Zweifel Seitenwurzelanlagen der ersten Ordnung: *Rumex Acetosella* (sicher), *Hippophae rhamnoides* (sehr wahrscheinlich).

3. GRUPPE. Wurzelknospen, welche durch die directe Umwandlung eines Vegetationspunktes einer fortwachsenden Wurzel, oder einer schon deutlich ausgebildeten Wurzelanlage entstehen: *Selaginella Martensii, S. laevigata, S. inaequalifolia, S. denticulata, S. Galeottiana, Ophioglossum vulgatum, Anthurium longifolium, Neottia Nidus-avis, Catasetum tridentatum, Rumex Acetosella* (bisweilen), *Impatiens Balsamina* (ein teratologischer Fall).

Als vierte Gruppe würden sich dieser Uebersicht die echten Callusknospen, welche so oft aus dem Callus verwundeter Wurzeln entstehen, anreihen lassen.

KAPITEL VIII.

Allgemeine Betrachtungen über Knospen und Wurzeln.

Ich wünsche in diesem Kapitel einige allgemeine Gesichtspunkte zu berühren, welche sich bei meiner speziellen Untersuchung aufdrängten. Dabei bin ich mir sehr wohl bewußt, daß, was ich zu sagen habe, sehr dürftig und theilweise ungenügend begründet ist, — ich halte mich aber nicht zurück, in der Hoffnung, dass andere, meinem Beispiel folgend, den sehr verwickelten Problemen der Knospen- und Wurzelbildung ihre Gedanken zuwenden wollen. Eine Reihe von dankbaren Spezialuntersuchungen drängen sich dabei dem Forscher auf.

§ 1. *Ursprung der Wurzelknospen.*

Ehe ich zur Besprechung des hier bezeichneten Thema's übergehe, will ich einige Bemerkungen über die phylogenetische Herkunft der Knospen im Allge-

meinen vorausschicken. Darüber bestehen verschiedene Ansichten. Pringsheim[1]) und Irmisch[2]) meinten, dass alle mögliche Knospenformen ursprünglich aus der Dichotomie des Stengelvegetationspunktes hervorgegangen sind, und, dass auch noch heute die Bildung jeder Achselknospe ein versteckter Dichotomieprocess ist. Mir scheint es aber, dass die Callusknospen und die normalen Wurzelknospen, welche letzteren, wie wir gesehen haben, schon bei den Farnen vorkommen[3]), sich diesem Gedankengange nicht ungezwungen unterordnen lassen.

Nägeli erklärt[4]) die Achselknospen für metamorphosirte Sporangien, er stellt die axillare oder »phyllogene Verzweigung« der Dichotomie oder »acrogenen Verzweigung« gegenüber, und er verbindet daran einige interessante Betrachtungen. Es scheint mir aber, dass es auch hier wieder die Wurzel- und Callusknospen der höheren Pflanzen, so wie die von Leitgeb[5]) so ausführlich beschriebenen Knospen der Leber- und Laubmoose sind, welche Nägeli's Annahme hinfällig machen, was ich wohl nicht weiter auszuarbeiten brauche.

Im Gegensatz zu einer dritten, von verschiedenen Autoren ausgesprochenen Meinung, lässt sich ferner nach meiner Ansicht die Knospenbildung nicht unmittelbar mit der Embryobildung vergleichen, sondern die Erstere ist nur einer der Factoren der Letzteren. Knospen- und Wurzelbildung sind zwei ursprünglich unabhängige Processe, welche ebensowohl *am Embryo*, wie an der erwachsenen Pflanze neben einander oder vereinzelt existiren können. Dass selbst am Embryo Knospenbildung an sich sehr gut möglich ist, lehren die wurzellosen Embryonen gewisser wurzeltragender Pflanzenarten, man denke z. B. an die Podostemaceen, und dieses beweist eben, dass Knospen- und Embryobildung nicht als homologe Vorgänge aufgefasst werden können. Noch deutlicher geht dieses aus der Entwicklung der Moose hervor, denn, wenn die Knospen mit Embryonen gleich zu setzen wären, so müssten die Moosknospen den Sporogonien entsprechen, was doch sicher nicht behauptet werden kann.

Schließlich hat man die Knospen für metamorphosirte Blattlappen erklärt, was zwar für bestimmte Lebermoose nach Leitgeb zutrifft, schwerlich aber im Allgemeinen zu vertheidigen ist.

Nach meiner Ansicht muss man in der Knospe nur ein Reproductionsorgan, sei es des ganzen Stockes oder irgend eines Theiles davon erblicken. Da nun jede lebende Zelle der Pflanze die Fähigkeit zur Neuerzeugung des Ganzen besitzt, oder besitzen kann, vermag die Natur auch jeden willkürlichen Punkt des Pflanzenkörpers für die Knospenerzeugung zu verwenden, allein nicht alle Gewebe eignen sich dafür in gleichem Grade, und dieser Umstand, in Verbindung mit gewissen, die Knospenbildung begünstigenden physiologischen Factoren, geben den Durchschlag für die Entstehung der Knospen an genau bestimmten Stellen,

[1]) *Bot. Zeit.*, 1851, pag. 118.

[2]) *Bot. Zeit.*, 1857, pag. 492.

[3]) Wahre Callusbildung ist mir dagegen bei den Gefässkryptogamen unbekannt.

[4]) Abstammungslehre, pag. 478, München 1884. Der nämlichen Ansicht begegnete ich auch anderswo in der Litteratur, und vor Jahren vertheidigte Hugo de Vries dieselbe im Mundgespräch.

[5]) Untersuchungen über die Lebermoose, z. B. Heft III, pag. 14, Jena 1877, und in Sachs' Lehrbuch, 4. Aufl., 1874, pag. 356.

und haben dieses bei den Voreltern gethan. Eben, wie die Callusknospen und die Wurzelknospen als eigenthümliche Knospenformen zu betrachten sind, so sehe ich auch in der Dichotomie nichts weiteres als eine mit der axillaren Verzweigung vielfach übereinstimmende Sprossungsform, welche, wie die letztere, auf den Vegetationspunkten beschränkt ist.

Hiermit ist natürlich die Frage nach dem Ursprung der Knospen im Einzelnen noch nicht erledigt, denn anstatt die Knospen in Uebereinstimmung mit der Möglichkeit einer überall stattfindenden Reproduction, regellos über den Pflanzenkörper verbreitet zu finden, sehen wir dieselben eben an genau bestimmten Stellen gebunden. Während wir nun einerseits, wie gesagt, auf die Existenz fester physiologischer Factoren schliessen müssen, welche dieses Verhalten zunächst bestimmen, so erscheint es anderseits als wahrscheinlich, dass die Stellen, wo wir gegenwärtig die Knospen finden, im Laufe der Zeit gewisse Aenderungen erfahren haben können. Besonders die Wurzelknospen geben in dieser Hinsicht zu einer näheren Untersuchung Veranlassung. Sind dieselben plötzlich entstanden an den nämlichen Stellen, welche sie jetzt einnehmen? oder sind sie aus Callusknospen hervorgegangen? Eine langsame Entwicklung in phylogenetischem Sinne, aus einer unscheinbaren Anlage ist natürlich für die Knospe nicht möglich, sie ist fertig da oder sie fehlt; erst wenn die Knospe in vollständiger Ausbildung zu bestimmten Lebensäusserungen der Mutterpflanze Veranlassung gibt, hat die Zuchtwahl Gelegenheit, die neue Eigenschaft zu fixiren und zu verstärken. Dabei muss nun zunächst bemerkt werden, dass, wenn von dem phylogenetischen Ursprung die Rede ist, die echten exogenen Wurzelknospen, welche wir z. B. bei *Aristolochia Clematitis* und bei *Orobanche Galii* kennen lernten, sich in scharfem Gegensatz zu den übrigen befinden. Denn in Bezug auf die exogenen Knospen ist es deutlich, dass in deren Gegenwart ein Familien- oder Ordnungscharacter vorliegt, sei es denn auch, dass dieselben bei vielen Arten, wo sie auf Grund der verwandtschaftlichen Beziehungen zu erwarten wären, gänzlich fehlen. Ueber den ersten Ursprung dieser Knospen lässt sich aus ihrem gegenwärtigen Verhalten kaum etwas sicheres ableiten; die Zuchtwahl hat auf ihnen unzweifelhaft während längerer Zeit eingewirkt, und die Verhältnisse bei den Santalaceen und Podostemaceen legen die Vermuthung nahe, dass die exogene Entstehung bei *Aristolochia* und *Orobanche* von secundärem Ursprung sein kann.

Was nun die übrigen Knospen anbelangt, welche in Bezug auf das junge Mutterorgan endogen sind, so haben wir gesehen, dass dieselben höchstens als Character einer Gattungssection (wie bei *Spiraea*), aber niemals als einer grösseren Abtheilung gemein, auftreten. Gewöhnlich fanden wir dieselben als eine ephemere Erscheinung, sei es bei gewissen Arten einer Gattung, oder selbst nur bei einzelnen Varietäten einer Art, wie bei *Brassica oleracea*. In diesem letzteren Falle, wozu auch die von Lund und Kiaerskow gezüchteten Bastarde zwischen *Brassica Napus* und *B. Rapa* gehören, ist das plötzliche Auftreten der Wurzelknospen direct beobachtet. Die früher besprochenen Umstände, unter welchen die Knospen hierbei entstehen, sowie die Verhältnisse am Lateralcallus von *Populus alba* und *Geranium sanguineum*, legen die Vermuthung nahe, dass auch bei anderen Arten, wie *Reseda lutea*, *Linaria vulgaris*, *Cephalanthera rubra*, deren Wurzelknospen ringsum die Basis von Nebenwurzeln sitzen, eine Zurückführung auf

Callusknospen möglich ist, und dass dieselben im Laufe der Zeit, während der Callus sich mehr und mehr reduzirte, zuletzt allein an dessen Stelle übrig geblieben sind. Hiergegen lässt sich aber anführen, dass von einer eigentlichen Callusbildung an den Wurzeln der verwandten Formen kaum etwas zu bemerken ist, und ich halte die Annahme auch rücksichtlich der übrigen beschriebenen Spezialfälle für unbegründet. Da ich keine andere Ableitung für die lateralen Wurzelknospen zu finden weiss, wie aus Callusknospen, und diese Ableitung mir kaum haltbar vorkommt, so glaube ich, dass die von mir beschriebenen morphologischen Tatsachen sich gegenwärtig schwerlich weiter interpretiren lassen, als wie ich es in meinen Spezialbeschreibungen gethan habe. Darnach sind die Wurzelknospen plötzlich entstanden durch Umwandlung ruhender Vegetationspunkte von Seitenwurzeln, oder aus Zellgruppen rings um die Basis von den letzteren, namentlich aus den Wurzelkernen, welche besonders für Seitenwurzelbildung geeignet sind, oder aus anderen Geweben, welche der Sitz irgend eines normalen Reproductionsvorganges, wie von Periderm- oder Korkbildung sind.

§ 2. *Wahre Callusknospen an Stengeln und Wurzeln.*

Es ist eine ziemlich allgemeine, durch die Gartenkunst vielfach bewährte Regel, dass die Fähigkeit abgeschnittener Wurzelstücke, aus ihrer oberen Wundfläche Callusknospen zu erzeugen, eine sehr grosse ist, und dazu an alten Wurzeln merkwürdigerweise gewöhnlich viel ansehnlicher, wie die Neigung zur Bildung neuer Wurzeln. Zwar besitzen auch die Stengel diese Eigenschaft, man denke z. B. an die Knospen auf abgehauenen Stöcken von Pappeln und Linden, — allein in viel beschränkterem Grade wie die Wurzeln. Ob die Wurzeln von einjährigen Pflanzen jemals Callusknospen erzeugen, bezweifle ich, dagegen geschieht dieses sowohl bei biennen Pflanzen, wie z. B. bei *Pastinaca sativa*, als bei kurz- und langlebigen Perennen oft mit wunderbarer Energie. Besonders die Pflanzen mit stärkereichen Wurzeln eignen sich für die Knospenbildung. Ausgezeichnete Versuchspflanzen in dieser Beziehung sind *Bunias Erucago*, *Crambe maritima*, *Phyteuma spicatum*, *Laserpitium latifolium*, *Bryonia dioica*, *Cichorium Intybus*, *Tragopogon porrifolius*; etwas weniger sind *Pimpinella Saxifraga*, *Eryngium campestre* und *Pastinaca sativa*, noch weniger geeignet ist *Daucus Carota*[1]).

Obschon die Bevorzugung der Knospenbildung am Oberende der Wurzelstücke[2]) nicht immer deutlich ist, — so fand ich z. B. bei Setzlingen von *Pastinaca sativa* entschieden die Mehrzahl der Knospen am Unterende, das heisst an der Wundfläche, welche dem weggeschnittenen Vegetationspunkte am nächsten war, — muss man darin doch, wie Vöchting gezeigt hat, eine Regel von einer sehr allgemeinen Gültigkeit sehen. Bemerkenswerth dabei ist die besonders starke Reproductionsfähigkeit der Hauptachse bei den Bäumen in der Nachbarschaft der

---

[1]) Als Monocotylenwurzeln mit echten Callusknospen habe ich diejenigen von *Dioscorea japonica* und *Tradescantia virginica* angegeben gefunden. Ich selbst sah bei meinen Versuchen daran keinen Callus entstehen (man vergleiche übrigens pag. 25).

[2]) Die lateralen Wurzelknospen, welche unabhängig von Callus sind, sind in ihrer Stellung in Bezug auf die Wachsthumsrichtung der Mutterwurzel zwar noch freier, nehmen an Stecklingen aber doch oft die obere Stelle ein.

Bodenoberfläche; in dem Wurzeloberende am stärksten, lässt sie sich unter steter und schneller Abnahme bis auf eine gewisse Strecke nach oben in den Stamm verfolgen, und erlischt in den, noch mit dem Baume verbundenen Zweigen oft gänzlich. Dieses ist offenbar für die Pflanze eine sehr gut eingerichtete Eigenschaft, welche ohne Zweifel bei gewissen Arten, z. B. bei den Pappeln, ein günstiger Factor im Kampf um's Dasein gewesen sein muss. Nichtsdestoweniger glaube ich, dass die Naturzucht diese Eigenschaft bei einer ganzen Reihe von Pflanzen vorfindet, ohne damit etwas anfangen zu können, da andere Organisationsverhältnisse die Bildung von Callusknospen dabei zu einer so seltenen Erscheinung machen, dass diese für die Existenz der Art als unwichtig aufgefasst werden müssen.

Callusknospen können, wie mir scheint, unter natürlichen Bedingungen nur relativ zufälligerweise entstehen, z. B. nach der Beschädigung durch Thiere, wie Mäuse und andere Pflanzenfresser, durch Fischen-[1]), Schnecken- und Insektenfrass, — durch Erdrutschen an schroffen Abhängen[2]), — durch Entwurzelung und Verwundung infolge des Windes, des Wogenschlages und des Treibeises, — durch scharrende Thiere, wie Maulwürfe, — und durch Viehtritte[3]). Sichere Beispiele für die regelmässige Entstehung von Callusknospen infolge des natürlichen Absterbens normaler Organe sind mir nicht bekannt.

Während die ebengenannten Umstände zureichend sein dürften, um die Reproduction vermittelst Callus als nützliche Eigenschaft stark exponirter Pflanzen aufzufassen, und dadurch das Auftreten von Callusknospen in gewissen Pflanzengruppen dem Verständnis näher zu bringen, ist durch diese Erkenntniss für das erste Auftreten derselben, ehe die Selection im Spiele kommen konnte, sowie für die physiologische Erklärung ihrer Ontogenie, nichts gewonnen. Dass bei deren Entstehung, im ontogenetischen Sinne, durchaus nicht immer »erbliche Kräfte« im Spiele sind, scheint sicher zu sein, oft müssen sie, wie oben angeführt, als eine accessore und nutzlose Erscheinung des Wachsthums aufgefasst werden[4]). So ist es z. B. unannehmlich, dass die echten Callusknospen der Eichen, Buchen und Tannen, welche man *sehr vereinzelt* in der Natur beobachten, oder durch die Gartenkunst mit Mühe hervorrufen kann, für diese Bäume auf irgend einer Weise nützlich sein können, und ich frage, welchen Nutzen die bei meinen Versuchen entstandenen Callusknospen an Wurzelstücken von *Pastinaca sativa* wohl haben mögen, wenn man bedenkt, dass die wilden Exemplare zweijährig sind und die Fähigkeit zur Knospenerzeugung nicht besitzen, während die Culturform wohl noch von niemand, ausser mir selbst, auf diese Weise multiplizirt worden ist? Ich glaube desshalb, dass wir dieses Vermögen sehr oft als eine, im

---

[1]) Hierzu muss ich aber bemerken, dass Callusknospen von Wasserpflanzen mir nicht bekannt sind.

[2]) Das Abbrechen von Baumzweigen infolge von Schneedruck, Glatteis und Blitz, sowie die Beschädigung vieler Kräuter durch Hagelschlag habe ich in Gelderland oft beobachtet, und dabei stets vergebens nach Callusknospen gesucht.

[3]) An den Rändern von Fusspfaden in Wiesen konnte ich bei vielem Suchen keine Callusknospen auffinden.

[4]) Wünscht man dennoch die erblichen Kräfte zu retten, so muss man annehmen, die Callusknospen seien den Voreltern nützlich gewesen.

Sinne Darwin's, incidentelle[1]), das heisst infolge ganz anderer Bedürfnisse oder Einrichtungen entstandene Eigenschaft, aufzufassen haben, und, dass Darwin selbst gegen diese Auffassung keine Bedenken einbringen würde, geht für mich daraus hervor, dass er in Bezug auf andere ähnliche Eigenschaften der Pflanzen, an verschiedenen Stellen seiner Werke sich folgendermaassen ausgesprochen hat: "In the earlier editions of this work[2]) I unterrated, as it now seems probable, the frequency and importance of modifications due to spontaneous variability." Und an einer anderen Stelle (pag. 175) des nämlichen Werkes: "We thus see that with plants many morphological changes may be attributed to the laws of growth and the interaction of parts independently of natural selection."

Die früher betrachtete ausgiebige Bildung von Wurzelknospen an den Wurzeln gewisser Kohlmischlinge, sowie an den Wurzeln der Hybriden zwischen Rutabaga (*Brassica Napus*) und Turnips (*B. Rapa*), welche beide an sich keine Wurzelknospen tragen, zeigt uns in der Bastardirung einen Umstand, welcher die Knospenerzeugung fördern kann. Dass auch die Nährstoffströmungen dabei wahrscheinlich eine wichtige Rolle erfüllen, wurde schon mehrfach gesagt. Auf diesen oder auf anderen ähnlichen Verhältnissen der inneren Oeconomie der Pflanze, muss die Allgemeinheit der Fähigkeit zur Bildung von Callusknospen jedenfalls zunächst beruhen, unabhängig, ob an eine besondere Nützlichkeit derselben entweder wohl oder nicht gedacht werden kann.

In Bezug auf die Nebenwurzelbildung aus Stengeln und Blättern lassen sich ganz ähnliche Betrachtungen anstellen, wie die hier vorgetragenen; ich will darauf aber, bei dieser Gelegenheit, nicht weiter eingehen.

§ 3. *Adventivknospen aus Stengelorganen. Versuche mit Kartoffeln und mit Zweigen von Weiden und von Cytisus Adami.*

Ausserhalb der Meristeme der Vegetationspunkte, welche überhaupt ein starkes Bestreben zur Neuerzeugung ihres Gleichen besitzen, ist die Fähigkeit zur Reproduction in den Stammorganen sehr gering und dazu sehr localisirt.

Echte, nicht aus Callus oder aus »Knospenkernen« entstandene Adventivknospen an erwachsenen Stengeln scheinen stets exogen zu entstehen; mir sind davon die folgenden Beispiele bekannt. *Psilotum triquetrum* erzeugt aus den Haarbildungen der unterirdischen Rhizome Unmassen von Knospen, welche sich leicht ablösen und zu neuen Pflanzen auswachsen[3]). Diese Eigenschaft dürfte mit der grossen sexuellen Unfruchtbarkeit der Pflanze zusammenhängen. *Begonia prolifera* (eine durch P. N. Don[4]) erzeugte Hybride von der Zusammensetzung *B. manicata* ♀ × *B. coccinea* ♂) und eine als *Begonia phyllomaniaca* bekannte Pflanze von

[1]) The origin of species, 6th Ed., pag. 198, 1878; Variation under Domestication, 2nd Ed. Vol. II, pag. 171, 1875.

[2]) Origin, 6th Ed., pag. 171.

[3]) Solms Laubach, Aufbau des Stockes von *Psilotum triquetrum* und dessen Entwicklung aus Brutknospen. *Ann. d. Jard. Bot. d. Buitenzorg*. Vol. IV, Part. 2, pag. 139, 1884.

[4]) Gardener's *Journal*, 1847, pag. 616.

unsicherer Herkunft, aber sicher eine Hybride[1]), tragen zahlreiche exogene Knospen über der Oberfläche ihrer Stengel und selbst ihrer Blätter verbreitet, welche eben wie bei *Psilotum* metamorphosirte Trichome sind[2]). Ueber die exogenen hypocotylischen Sprosse von *Linaria vulgaris* habe ich bei der Behandlung dieser Pflanze gesprochen. Ferner können nach gärtnerischen Angaben die abgeschnittenen Blüthenschafte von *Dionaea muscipula* sich eben wie die Blätter dieser Pflanze mit Knospen bedecken[3]); ich untersuchte die Knospen auf den Blättern von *Drosera rotundifolia*, diese entstehen aus der Mitte der Oberseite reifer Blätter, oberhalb der Verzweigungsstellen dicker Nerven, vollständig exogen[4]), ich glaube desshalb, dass die Dionaeaknospen, welche ich nicht untersuchen konnte, ebenfalls exogen sind.

Eine andere, mit der soeben betrachteten nahe verwandte Reproductionsform, ist derjenige Fall von Viviparität, wobei eine normalerweise im Zustande von Dauergewebe vorkommende Achsenspitze wieder in den Meristemzustand zurückschlägt und durchwächst. Man findet diese Erscheinung bei mehreren sexuell sehr wenig fertilen Pflanzen, wie *Poa alpina vivipara*, *Poa bulbosa vivipara*, *Polygonum viviparum* (bisweilen) und *Eryngium viviparum* (?), ferner, als teratologische Erscheinung, an den Aehrchenspindeln von *Cynosurus cristatus* bei Spätlingen im Herbst, und bei Birnen und doppelten Rosen so wie bei vielen anderen doppelten Blüthen[5]).

Eine dritte Reihe von Erscheinungen, welche mit dem uns hier beschäftigenden Gegenstand verwandt sind, finden wir in den accessoren internodialen Knospen von *Calliopsis tinctoria*[6]), in den von Pringsheim entdeckten[7]) »rankenartigen Bildungen« auf den Internodien von *Utricularia*, so wie in den zerstreuten nodalen Knospen von *Ephedra*, welche Strassburger auffand[8]). In allen diesen Fällen kommt es mir sehr wahrscheinlich vor, dass wir nur mit accessoren Seitenproducten der Vegetationspunkte zu schaffen haben, wodurch sich diese Knospen nicht auf eine Linie mit den vorhergehenden stellen lassen. Diese letztere Auffassung ist sicher die richtige betreffs der scheinbar endogenen, in der Wirklichkeit in einer

---

[1]) Nach de Candolle *(Prodromus)* zwischen *Begonia manicata* v. Martius und *B. incarnata* var. *papillosa*, nach Braun (Individuum) wahrscheinlich zwischen *B. incarnata* und *B. dipetala*. Es gibt noch eine andere Form, welche als *Begonia phyllomaniaca* bezeichnet wird, nämlich der Bastard *B. odorata* ♀ X *B. ricinifolia* ♂ *(Report Internat. Hortic. Exposit.* 1866).

[2]) Wakker, Onderzoekingen over adventieve Knoppen, pag. 7, 1885.

[3]) Die Pflanze scheint in den Warmhäusern nirgends gesäet zu werden, überall sieht man die Gärtner die Blüthenschafte entfernen, »um das Wachsthum der Blätter zu fördern«.

[4]) Ich fand keinen Grund zu glauben, dass hier embryonale Zellgruppen oder etwa ruhende Knospen, welche schon seit dem Meristemzustand des Blattes existirten, zur Entwicklung gelangten, die Knospen, deren ich bei meinen Pflanzen zwei auf jedem Blatte fand, entstanden, wie bei *Begonia* augenscheinlich aus der erwachsenen Epidermis, und waren desshalb im wahren Sinne des Wortes adventiv.

[5]) Wie sich die von Braun (Polyembryonie) erwähnten viviparen Agaven *(A. vivipara, A. sobolifera, A. Jaquiniana, Fourcroya longaeva)* in dieser Beziehung verhalten, ist mir unbekannt.

[6]) Braun und Magnus, Adventivknospen von *Calliopsis tinctoria*, *Verh. bot. Ver. d. Prov. Brandenburg*, 1870, pag. 151.

[7]) *Monatsberichte der K. Akad. d. Wissensch. z. Berlin*. Febr. 1869.

[8]) Coniferen und Gnetaceen, pag. 332, Jena 1872.

überwallten Rindenkammer sitzenden Beiknospen von *Gleditschia sinensis* und *Symphoricarpus racemosa*, für welche A. Hansen zeigte[1], so wie von *Lonicera coerulea* und drei anderen Arten dieser Gattung, für welche ich selbst fand, dass diese Knospen in gänzlich normaler Weise in den Meristemen der Terminalknospen angelegt werden, ähnlich den, bei so vielen Pflanzen vorkommenden überzähligen Achselknospen. Dass letzteres ebenfalls gilt für die accessoren exogenen Sprossungen gewisser Inflorescenzen, wie diejenigen von *Atriplex* und vieler Asclepiadeen, braucht kaum erwähnt zu werden.

In Bezug auf die Adventivknospen von *Lycopodium aloifolium*, welche hier noch in Betracht kommen, sagt Strassburger[2]: »Sie zeigen sich ganz tief an der Basis des Stengels, dicht über dem Boden; sie treten hier meist in den Achseln älterer Blätter auf, und sind dadurch merkwürdig, dass sie ganz peripherisch erzeugt werden.« Nach dem, was ich selbst bei *Lycopodium inundatum* gesehen habe, scheint es mir möglich, dass diese Knospen nichts weiteres als ruhende Dichotomiezweige sind.

Ueberblicken wir diese gesammten Angaben, so finden wir, dass die Erzeugung wahrer exogener Adventivknospen aus erwachsenen Stengelorganen sich beschränkt auf die bei *Begonia*, *Dionaea* und *Psilotum* erwähnten Fälle, wobei von einer Nützlichkeit für die Spezies nur bei *Psilotum* die Rede sein kann.

In Bezug auf die endogenen (oft *beinahe* exogen) aus Callus hervorgehenden Knospen würde es mir möglich sein, eine längere Reihe von Beispielen wie für die exogenen beizubringen. Ich will mich aber in dieser Beziehung beschränken auf die Besprechung einer besonderen Gruppe derselben, welche bisher wenig beobachtet worden ist, und welche gewisse Analogien aufweist mit den Wurzelknospen, ich meine die secundären Producte verwundeter »Knospenkerne«[3]).

Nachdem mir bei einigen holzigen Pflanzen aufgefallen war, dass beim Wegschneiden der Knospen glatt am Stamme, aus der Wundfläche wieder eine oder mehrere neue Knospen entstehen, stellte ich genauere Versuche an mit Weidenzweigen, Kartoffeln und Zweigen von *Cytisus Adami*.

Bei *Salix amygdalina* fand ich einen Process von wahrer Regeneration; die neuen Knospen entstehen nämlich bei einjährigen Zweigen genau an den Stellen der entfernten Knospen, und besitzen den nämlichen Bau wie diese, so sind selbst die beiden ersten Knospenschuppen mit einander zu der bekannten, die ganze Knospe einhüllende Kappe verwachsen und beinahe genau nach rechts und links orientirt. Bei älteren Stämmen von *Cytisus Adami* fand ich nach der Entfernung der Seitenknospen gewöhnlich mehrere, in einem Kreise rings um den Holzcylinder der Letzteren angeordnete Adventivknospen, deren Entstehung nicht einfach als Callusreproduction aufzufassen war, denn Verwundung an anderen Stellen gab bei meinen Versuchen überhaupt keine Veranlassung zur Knospen-

---

[1]) Vergleichende Untersuchungen über Adventivbildungen bei den Pflanzen, *Abh. d. Senck. naturf. Gesellschaft*, Sep. pag. 27, Frankfurt 1881.

[2]) Bemerkungen über Lycopodiaceen. *Bot. Zeit.*, 1873, pag. 104.

[3]) Zuerst, wie ich glaube, durch Vöchting beobachtet, Organbildung, Th. I, pag. 47, 1878, wo es in Bezug auf die Weidenknospen heisst: »Hin und wieder kommt es vor, dass ausser den genannten noch weitere, vielleicht adventive, vorhanden sind«, etc.

bildung, die frühere Nachbarschaft der Knospe war dafür offenbar eine nothwendige Bedingung[1]).

Um die Reproductionsfähigkeit von Kartoffeln festzustellen, entfernte ich die Knospen bis auf verschiedener Tiefe, sowie die Rinde zwischen den Knospen, und stellte die Kartoffeln dann in feuchten Sand. Zwischen den Knospen sah ich nichts Neues entstehen, dagegen bildeten sich aus den Wundflächen unterhalb derselben eine kleine Knospengruppe oder eine einzelne Knospe, ähnlich wie an den Weidenzweigen[2]). War die Dicke der unterhalb der Knospen entfernten Rindenschicht gross, so dass das Cambium berührt wurde, dann war das Regenerationsvermögen auch an diesen Stellen erloschen. Hier liegt also eine gänzlich analoge Eigenschaft vor wie bei den Seitenwurzelkernen von *Cochlearia Armoracia*.

In Bezug auf die eigentlichen Callusknospen an Stengeln will ich hier noch bemerken, dass diese, eben durch ihren Ursprung aus Callus, sehr oft (jedoch nicht immer) auf ganz bestimmte, für Reproductionsprozesse überhaupt eingerichtete Gewebe zurückzuführen sind. Man sieht nämlich den knospenerzeugenden Callus gewöhnlich aus cambialen oder pericambialen Schichten entstehen, das heisst aus Zellen, welche im natürlichen Laufe des Wachsthums einerseits secundäres Holz und secundäre Rinde, anderseits Seitenwurzeln, Faserbündel oder phellogene Zellen hätten erzeugen können. A. Braun scheint der Erste gewesen zu sein, welcher die Allgemeinheit dieses Zusammenhanges bemerkt hat; seine eigenen Worte lauten folgendermassen[3]): »In der Mehrzahl der Fälle vegetativer Fortpflanzung ist es unzweifelhaft, dass die Zelle, von welcher die Entwicklung des neuen Individuums ausgeht, trotz ihrer Theilhaftigkeit an dem Leben und ihrer kürzer oder länger andauernden Verbindung mit den Geweben der Mutter doch die Bestimmung zu dieser Entwicklung *ursprünglich* in sich trägt. Als zweifelhaft können in dieser Beziehung die Anfänge aller Adventivknospen erscheinen, doch machen es die Wucherungen des Gewebes, welche dem Stock- und Wurzelausschlag gewöhnlich vorangehen, nicht unwahrscheinlich, dass die Urzellen dieser Adventivsprosse nicht gewöhnliche, sondern schon besonders zur Sprossbildung[4]) bestimmte Cambiumzellen sind. Die aus Blättern entspringenden Sprosse entstehen an bestimmten Stellen, was gleichfalls darauf hindeutet, dass sie aus einer ursprünglichen, nicht zufälligen Anlage hervorgehen.«

[1]) Bei Rhododendronzweigen, deren Seitenknospen erfroren waren, hat man dieses Verhalten ebenfalls bemerkt.

[2]) Auf diese Weise müssen die Versuche mit Kartoffeln von Carrière interpretirt werden, nach welchen Kartoffelstücke an allen Punkten ihrer Oberfläche Knospen erzeugen können. Diese Angabe ist nicht richtig, die Stücke thun es nur in den oben als »Knospenkernen« bezeichneten Stellen. Duchartre hat also kein Recht, auf Grund dieser Versuche zu behaupten (*Bulletin de la Soc. Botan. de France,* T. 18, 1881, pag. 146): »Il reste donc établi par ces expériences que les cellules du parenchyme féculifère de la pomme de terre, sur tous les points de la masse d'un tubercule peuvent s'animer et devenir ainsi les foyers de multiplication cellulaire, dont résulte bientôt l'organisation de bourgeons.«

[3]) Ueber Polyembryonie und Keimung von *Caelebogyne ilicifolia, Abh. d. Königl. Akad. d. Wiss. Berlin,* Jahrg. 1859, pag. 231.

[4]) Nach meiner Ansicht nur für Reproductionsvorgänge irgend einer Art, sei es für Holz-, Rinden-, Nebenwurzel- oder selbst für Korkbildung.

Während wir also einerseits die Ueberzeugung erhalten, dass die Möglichkeit zur Knospenbildung überall im lebenden Stengelgewebe existiren kann, drängt sich anderseits der ausserordentlich grosse Unterschied zwischen den verschiedenen Geweben des nämlichen Organes in dieser Beziehung uns auf, und es scheint mir, dass zwischen den verschiedenen Zellen der nämlichen Pflanze kaum ein anderer, so wichtiger Unterschied wie dieser anzugeben ist. Die physiologische Pflanzenanatomie wird darauf in der Zukunft unzweifelhaft viel mehr Nachdruck legen, als wie gegenwärtig geschieht.

Die gallenerzeugenden Cynipiden des Eichenbaumes sind in ihrem Körperbau und in ihren Instinkten, wie ich an anderer Stelle gezeigt habe, diesem Unterschied in schönster Weise angepasst. Diejenigen Arten, welche erwachsene Organe für die Erzeugung ihrer Gallen bedürfen, legen ihre Eier in Pericambium, Phloëm oder Cambium ab, wobei sie nur eine kurze rechte Legeröhre bedürfen, um die betreffenden Organe anzubohren. Wird dagegen ein meristematisches Organ zur Gallbildung benutzt, so braucht das Ei nur an die Oberfläche desselben abgelegt zu werden, wozu für die Frühjahrscynipiden eine höchst einfache Legeröhre genügt, für die Winterformen dagegen, welche die tief in den Knospen verborgenen Meristeme benutzen, oft ein sehr complizirtes Organ für das Eierlegen nothwendig wird.

§ 4. *Uebersicht einiger durch das Vorhergehende gewonnener Ansichten.*

Durch die vorliegende Untersuchung, sowie durch viele andere schon längst bekannte und besonders durch Vöchting[1]) beschriebene Thatsachen können, wie ich glaube, die folgenden Ansichten als wohl begründet betrachtet werden.

1. Für so weit sich in einer lebenden Zelle ein normaler Zellkern vorfindet, hat diese Zelle die Fähigkeit, jedes Organ der Pflanze, wozu sie gehört, zu erzeugen; diese Fähigkeit, kann aber in latentem Zustande gegenwärtig sein[2]), um activ zu werden, wenn das Cytoplasma dazu Veranlassung gibt.

2. Die Reproductionsfähigkeit geht gewöhnlich in den erwachsenen Geweben, infolge von Veränderungen im Zellkerne verloren, ein besonderes Reproductionsgewebe, das Pericambium, bleibt aber in den erwachsenen Organen, Wurzeln, Stengeln, Blättern für die Erfüllung der verschiedensten Processe der Neubildung übrig. Dickenwachsthum, Nebenwurzel-, Periderm- und Korkbildung sind dafür die Hauptaufgaben, unter Umständen können daraus Knospen und Callusbildungen entstehen, und viele Gallwespen verwenden es zur Erzeugung ihrer Gallen.

3. Die verschiedenen Reproductionsgewebe einer nämlichen Pflanze besitzen in Bezug auf die dadurch erzeugten verschiedenartigen Neubildungen eine gewisse spezifische Constanz; können aber durch relativ äussere (allein gewöhnlich aus dem Innern der gesammten Pflanze kommende Einflüsse) einen Functionswechsel erleiden (Knospenbildung aus Wurzelpericambium und Wurzelmeristemen).

---

[1]) Den Inhalt seines Hauptwerkes, Organbildung im Pflanzenreich, Erster Theil, p. 240, Bonn 1878, setze ich als bekannt voraus.

[2]) Vergleichbar also z. B. mit dem latenten Zustande der weiblichen Charactere in jeder Zelle einer männlichen zweihäusigen Pflanze.

4. Jedes Meristem hat ein starkes Bestreben, bei der Reproduction Aehnliches zu erzeugen: Ein Knospenmeristem oder ein (als besonderes anatomisches Organ aufzufassender) Knospenkern z. B. neue Knospen, — ein Wurzelmeristem (man denke z. B. an die Dichotomen) oder ein in der Rinde der Mutterwurzel verborgener Wurzelkern neue Wurzeln[1]), — ein Blattmeristem neue Blätter (proliferirende Kohlblätter, verdoppelte Petalen, Nectarienschuppen und Kronenschuppen, Blattknospen der Farne und von *Cardamine*).

5. Ist ein Meristem zum erwachsenen Organe geworden, so vermindert darin, das ist also in diesem Organe, die Neigung zur Erzeugung des Aehnlichen, während das Bestreben zur Bildung des Unähnlichen zunimmt. So entstehen aus den Reproductionsgeweben erwachsener Wurzeln schwierig neue Wurzeln, leicht dagegen Knospen, und umgekehrt, aus den Reproductionsgeweben von Stengeln ziemlich leicht Wurzeln, schwierig neue Knospen[2]). Blätter, welche nur als Theile des einheitlichen Sprosses oder der Knospe aufgefasst werden können, bilden im erwachsenen Zustande ziemlich leicht Wurzeln, dagegen nur sehr selten Knospen (*Begonia*, *Drosera*; gewisse Zwiebelschalen bei *Liliaceen* und *Oxalideen* an noch nicht vollständig ausgewachsenen Stellen).

6. Bildet sich aus einem Knospenmeristem eine neue Seitenknospe, so scheint auf Grund der vorgehend genanten Regel, das zu dieser Knospe nächst benachbarte Pericambium besonders für Neuwurzelbildung geeignet zu sein, denn erstens wird die Neigung dazu in diese Region des Pericambiums durch die fortwachsende Hauptachse selbst, zweitens durch die Seitenknospe induzirt. Dadurch scheint sich bis zu einem gewissen Grade zu erklären, wesshalb die so nützliche Stellung der Nebenwurzeln an den Stengelorganen in der unmittelbaren Nachbarschaft der Seitenknospen so allgemein ist.

Bildet sich aus einer fortwachsenden Wurzelspitze eine Seitenwurzel, so muss, dem nämlichen Gedankengange zufolge, das Pericambium in der Umgebung der letzteren besonders geeignet sein zur Knospenerzeugung, denn erstens wird die Fähigkeit dazu durch die fortwachsende Wurzel an sich, zweitens durch die Seitenwurzel gefördert. Es ist klar, dass die Stellung so zahlreicher Wurzelknospen an der Seitenwurzelbasis hiermit in Uebereinstimmung ist.

Nach letzterer Regel, in Verbindung mit der fünften, müssen die Oberachseln der Seitenknospen besonders geeignet sein für die Nebenwurzelbildung und wir finden dafür thatsächlich viele Belege, wie z. B. bei den Cruciferen, Campanulaceen, Ericaceen, Lobeliaceen, vielen Rosaceen, vielen Alsineen etc., und umgekehrt sind, demselbigen Gedankengange zufolge, Wurzelknospen besonders in den Ober-

---

[1]) Die Seitenwurzeln erzeugenden Gewebestreifen im Pericambium der Phanerogamenwurzeln können als so viele Massen von jugendlicher »Wurzelsubstanz« aufgefasst werden, welche fertig da liegen, um sich unter günstigen Nahrungsbedingungen zu Seitenwurzeln — in einzelnen Fällen zu Seitenknospen — zu entfalten. Die Dichotomen, welche kein speziell für Seitenwurzelbildung geeignetes Pericambium in der Wurzel besitzen, stehen in dieser Hinsicht auf einer niedrigeren Stufe der Anpassung an das feste Medium wie die Farne.

[2]) Dass die ausgiebige Knospenbildung an abgehauenen Baumstämmen nur nahe am Boden, im »wurzelartigen« Theile besteht, nach oben geringer wird oder verschwindet, wurde schon früher bemerkt.

achseln der Seitenwurzeln zu erwarten, was ebenfalls in manchen Fällen wirklich zutrifft (*Cirsium*, *Pyrola*, *Rumex*, etc.).

§ 5. *Auffassung der Knospe und des beblätterten Sprosses als einheitliche Bildungen.*

Sachs hat sich vor kurzer Zeit in seinen »Vorlesungen über physiologische Botanik« bemüht, Stengel und Blatt nirgends als besondere Organe einander gegenüberzustellen, sondern den Spross als einheitliches Gebilde zu behandeln. Durch diese Auffassung gewinnt die morphologische Betrachtung der genannten Organe sehr an Natürlichkeit, und an ihrer Richtigkeit kann nicht gezweifelt werden. Ganz besonders spricht dafür die Uebereinstimmung im anatomischen Baue swischen Blatt und Stengel, welcher durch den Nachweis des Centralcylinders, des Pericambiums und der Endodermis in so vielen Blattstielen, in der letzten Zeit ihre Begründung erfahren hat. Allein, schon eine vorurtheilsfreie äussere Betrachtung führt zum Schlusse, dass die Trennung zwischen Stamm und Blatt eine künstliche ist, und dass hier durchaus nicht ein ähnlicher Gegensatz besteht, wie zwischen Spross und Wurzel. Wo liegt an einem beblätterten Farnstamme, in einer Blattrosette, in einer Phanerogamenblüthe die Grenze zwischen Blatt und Stamm? Wie gross ist die Verschiedenheit in dem anatomischen Zusammenhange zwischen einem Achsenorgane und den dazu gehörigen Blättern verglichen mit der Verbindung dieser Achse mit einer daraus entstandenen Knospe oder Wurzel! Blatt und Achse sind Eins, Knospe und Wurzel in Bezug auf die Achse accessore Neubildungen.

Versucht man es, zu einer klareren Auffassung über die Natur des Sprosses zu gelangen, so sind es besonders zwei Vorstellungen, welche sich dabei aufdrängen. Erstens kann man nämlich annehmen, dass der Stengel nur ein aus der Verwachsung von den Blattbasen entstandenes Gebilde sei, und zweitens, dass Stengel und Blatt zusammen als homolog mit einem Thallus betrachtet werden müssen.

Die erstere Ansicht, welche sich als eine Ausdehnung der Metamorphosenlehre Goethe's[1]) darstellt, hat schon vor langer Zeit ihre Vertheidiger gefunden in Dupetit Thouars und Gaudichaud[2]) und neuerdings in Delpino's Buch über die Blattstellung[3]). Nach Delpino baut sich jeder Vegetationspunkt nur aus Blättern auf, welche bei ihrer Aneinanderreihung sich *ursprünglich* so verhalten, als ob es Kugeln seien, welche nach dem möglichst einfachen mechanischen Gesetze sich zu einem Körper von stabilem Gleichgewicht vereinigen. Dieser Körper ist die zierliche, aus drei spiralig gewundenen Reihen von Kugeln aufgebaute Säule, welche Delpino »Blattstandsäule« nennt[1]).

---

[1]) J. W. von Goethe, Versuch über die Metamorphose der Pflanzen, Stuttgart 1831.

[2]) A. du Petit Thouars, Essai sur la végétation considérée dans le développement des bourgeons, Paris 1809 (ein unbedeutendes Buch). Gaudichaud's Ansichten kenne ich nur aus dem Résumé in A. Richard's Grundriss der Botanik, 3. Aufl. pag. 197, Nürnberg 1840.

[3]) Teoria generale della Fillotassi, pag. 158, Genua 1883.

[4]) In Airy's Behandlung der Blattstellung (siehe weiter unten) wird diese Säule schon genannt.

Die Divergenz der Kugeln betragt darin ungefähr 4/11, denn der Winkel zwischen denselben ist annähernd $131^{\circ} 48' 37''$ [1]. Durch Formveränderung der die Säule aufbauenden Elemente und durch Verlängerung und Verkürzung der Achse der Säule unter Beibehaltung der ursprünglichen Grösse der Elemente können daraus, nach einfachen mechanischen Regeln, die Divergenzen der Hauptreihe der Blattstellungen abgeleitet werden. Die Glieder der Nebenreihen entstehen, nach Delpino, durch Spaltung gewisser Elemente in regelmässiger Ordnung unter Mithülfe der genannten Form- und Achsenveränderungen.

Sehen wir nun zuerst von Delpino's besonderer Hypothese der Blattstandsäule ab, so scheinen mir für die Ansicht, dass der Stamm sich nur aus Blättern aufbaut, ausser dem von Delpino erwähnten Beispiele des Moosstammes, besonders die Keimpflanzen der Farne zu sprechen, deren Achse sich ohne jeden Zwang vergleichen lässt mit einem Sympodium, wobei die Spitzen der zwei- oder dreizeilig angeordneten Glieder sich als Blätter abzweigen und deren Basen den Stengel aufbauen (vergl. pag. 133), eine anatomische Grenze zwischen Blatt und Stamm fehlt dabei vollständig. Ein zwingender Grund zur Annahme der »Blättertheorie« des Stengels geht aus diesen Verhältnissen jedoch sicher nicht hervor, und es scheint mir dem gegenüber wenigstens ebenso annehmlich, die beblätterte Achse der Farnkeimpflanzen, sowie diejenige der Moose, mit einem Thallus zu vergleichen.

Was ferner die Anordnung der Elementarblätter nach der Divergenz 4/11 anbelangt, so ist es sicher bemerkenswerth, dass diese Divergenz bei vielen Blattmoosen vorkommt[2], in deren kleinen Knospen die Raumersparniss, welche durch die Anordnung nach den gewöhnlichen höheren Divergenzen der Hauptreihe gewonnen werden könnte, nur gering sein würde. Braun führt ferner als Beispiele für 4/11 die Bracteen von *Musa*, die jüngeren Stöcke von *Agave americana* in seltenen Fällen, sowie gewisse Schösslinge von *Rosa gallica* und *Myrtus communis* an. Delpino selbst fand diese Stellung bisweilen an gewöhnlich fünfreihig beblätterten Zweigen; endlich erwähnt Bruch 4/11-Stellung an den Rhizomen von *Dentaria glandulosa* und an den Knollen von *Tropaeolum tuberosum*. Uebrigens ist mir kein einziges anderes Beispiel bekannt, und gern wird man Delpino beistimmen, wenn er annimmt (nicht zu Gunsten seiner eigenen Hypothese), dass diese Stellung so zu sagen nur eine zufällige Abweichung der 2/5-Stellung (wahrscheinlicher der 3/8-Stellung das heisst von 135° ist). Diesem Thatbestand gegenüber scheint mir die Blattstandsäule mit den pflanzlichen Verhältnissen allzuwenig übereinzustimmen[3], und ich bin überdies durch Delpino's Buch nicht überzeugt, dass die Veränderungen, welche man darin zustande kommen lassen muss, um zu den gewöhnlichen Winkeln 1/2, 1/3, 2/5, 3/8, zu kommen, auch den Weg

[1]) Der Cosinus des Divergenzwinkels der Kugelsäule ist genau $= - 2/3$.

[2]) Braun (Tannenzapfen, pag. 301, *Berl. Akad. d. Wiss.* 16. Juli 1830) nennt in dieser Beziehung *Dicranum scoparium*, *D. Schraderi*, *D. multisetum*, *Meesia hexasticha*, *M. longiseta*, *Catharinea undulata*, *Grimmia ovata*, *G. affinis*, *G. atrata*, *G. cernua β. spiralis*, *Cinclidotus fontinaloides* und *Hypnum trifarium*.

[3]) Warum Delpino es so natürlich findet (l. c. pag. 159 etc.), dass diese Stellung, welche doch nach ihm die am meisten vollkommene in mechanischer Hinsicht ist, — so äusserst selten vorkommt, ist mir nicht deutlich geworden.

bezeichnen, welchen die Natur einschlagt, wenn sie die Blätter nach diesen Divergenzen anordnet, und hierauf kommt es doch eigentlich nur an.

Delpino legt in dieser Beziehung besonderes Gewicht auf die geringe Veränderung, welche die Anordnung der Säule zu erleiden hat, um in die fünfreihige, d. h. die verbreitetste aller Stellungen überzugehen. Angenommen, dass die Kugeln in der Säule durch gegenseitigen Druck die Gestalt eines regelmässig sechsseitigen Prisma's erlangen, so wird die Divergenz, sobald die Prismen infolge der kleinen, mit der Formveränderung verbundenen Verschiebung, ineinandergreifen, nahezu $^{20}/_{51}$[1]. Erhält der Querschnitt der durch Druck veränderten Kugeln mit einem der Achse parallelen Cylindermantel die Gestalt des Delpino'schen Sechseckes[2], so entsteht genau die $^2/_5$-Stellung. Wären nun, wie Schwendener mit soviel Scharfsinn und Kenntnis zu beweisen gesucht hat[3], solche Druckverhältnisse wirklich in den Vegetationspunkten thätig, und entstand erst unter deren Mitwirkung die $^2/_5$-Stellung, so müsste man Delpino's Auffassung beistimmen. Allein in den Vegetationspunkten ist von Verschiebungen durch Druck durchaus nichts zu sehen, sondern es ist eben bei der Anlage der Organe, wie besonders durch C. de Candolle hervorgehoben worden ist[4], dass man die gewöhnlichen Stellungen erst recht schön, so zu sagen mit geometrischer Genauigkeit vorfindet, während von einer realen Existenz der Blattstandsäule, welche sich doch auf irgend einer Weise in den Vegetationspunkten äussern müsste[5], überhaupt nichts bemerkbar ist. Ich habe auch nicht in Knospen mit $^2/_5$-Stellung das Delpino'sche Sechseck als Querschnittsform der Organe auffinden können, dieses kommt vielmehr, wie Delpino selbst anführt, bei den höheren Stellungen dicht gedrängter Organe vor. Kurz, die genannten geometrischen Beziehungen scheinen nur als Coincidenzen ohne physiologische Bedeutung aufgefasst werden zu können.

Auch in genealogischer Hinsicht fehlt der Hypothese jede Stütze. Die Lebermoose, bei welchen man die primordiale Blattstellung noch am ehesten würde erwarten können, reihen ihre Blätter gewöhnlich zweizeilig an, und unter den Farnen ist auch diese letztere Stellung wahrscheinlich die älteste. Da man sich nun schliesslich die Blattstellungen in mechanischer Hinsicht ebensowohl durch ein Schema mit, wie durch ein solches ohne Achse erklären kann, bleiben, nach meiner Ansicht, keine genügende Gründe übrig, weder zur Annahme der Blätterhypothese des Stengels, noch der Blattstellungssäule als Bild der ursprünglichen Anordnung der in Entstehung begriffenen Blätter.

Sehen wir uns nun die zweite Möglichkeit, welche ich als Thallustheorie des Blattsprosses bezeichnen will, etwas näher an.

---

[1]) Fillotassi, pag. 137.

[2]) Dieses Sechseck hat je zwei einander gegenübergestellte horizontale Seiten, lang 2, zwei kurze verticale, lang 1, und zwei mittlere Seiten, lang $\sqrt{2}$, welche die horizontalen und verticalen unter 45° schneiden, und kommt tatsächlich als Querschnittsform der gedrängten Schuppen in den Zapfen von *Pinus Pinea* vor.

[3]) Mechanische Theorie der Blattstellungen, pag. 11, Leipzig 1878. Zur Theorie der Blattstellungen. *Berl. Sitzungber.*, 12. Juli 1885.

[4]) Considérations sur l'étude de la phyllotaxie, pag. 27, Genève 1881.

[5]) Delpino scheint die Meinung, dass die Blattstandsäule wahrnehmbar sein muss, nicht zu theilen, aus seinen Aeusserungen ist mir aber nicht deutlich geworden, wie er sich denn die Sache eigentlich vorstellt.

Sie gründet sich zunächst auf der allgemein anerkannten Herkunft der höheren Pflanzen aus lebermoosähnlichen Vorfahren, welche einen bilateralen Thallus besassen [1], und ferner auf der offenbaren Verwandtschaft zwischen dem zweizeiligen Blattsprosse und diesem Thallus, welche auch daraus erhellt, dass manche beblätterte Ordnungen wieder, so zu sagen unter unseren Augen, thallöse Arten erzeugen können, man denke z. B. an die Familien der Lemnaceen und Podostemaceen. Diese Beispiele zeigen deutlich, dass der Thallus dem Bauplane der höheren Pflanzen nicht sehr fern liegen kann [2]. Die Allgemeinheit der zweizeiligen Blattstellung bei manchen niederen Gruppen von Gefässkryptogamen und Phanerogamen scheint mir auf die Entstehung aller höheren Pflanzen aus bilateralen Thalluspflanzen hinzuweisen. Göbel (in Schenck's *Encyclopedie der Botanik*) scheint dagegen anzunehmen, dass die Spiralstellung der Blätter bei den höheren Pflanzen auf einen helicoidalen Thallus, wie wir ihn heute noch bei *Riella* vorfinden, zurückzuführen ist [3].

War einmal ein zweizeilig beblätterter Spross gegeben, so lehrt uns die sehr bemerkenswerthe Beweisführung Airy's [4], dass die übrigen Spiralstellungen der Blätter [5] begreiflich werden [6] durch die Annahme der Hypothese, dass der Nutzen der Blattstellungen in den dicht zusammengepackten Organen (Involucren, Zwiebeln, Rosetten, Aehren) besonders aber in der Knospenlage gesucht werden muss, und nicht am ausgewachsenen verlängerten Sprosse. Die Annahme dieser Hypothese scheint unabweisbar, denn für jede Knospe muss es nützlich, ja nothwendig sein, bei der geringsten Länge die Maximalzahl von Blattanlagen einzuschliessen, weil sie sich dadurch weitaus am besten gegen Witterungsungunst und allerlei andere schädliche Einflüsse während ihrer zarten Jugend zu schützen vermag. Die Raumersparniss ist für die Knospe ein Bedürfniss, wovon ihre Existenzfähigkeit abhängig ist. Wird diese Aussage als richtig anerkannt, so ist die allgemeine Neigung der höheren Pflanzen, ihre Blätter nach den Stellungen der Hauptreihe anzuordnen, zwar nicht erklärt, allein, weil dadurch bekanntlich die stärkste Condensation der Blattanlagen erreicht werden kann, unter die Herrschaft des Nützlichkeitsprinzips

---

[1]) Die Lebermoose an sich können hier nicht in Betracht kommen, denn selbst die Riccien sind beblättert, und betreffs der bekanntlich ebenfalls beblätterten Marchantiaceen kann man kaum bezweifeln, dass sie von gewöhnlichen »foliosen« Vorfahren abstammen.

[2]) Gibt es bei den höheren Pflanzen heute noch *Organe*, welche als Thallus betrachtet werden müssen? Nägeli und Schwendener (*Mikroskop*, 2. Aufl.) nehmen einen Thallus (Hypocotyl und Samenlappen) als Grundlage des Embryo an. Der nicht differenzirte Theil des Vegetationspunktes oberhalb der jüngsten Blätter ist möglicherweise einem Thallus gleichzusetzen. Auch der Callus dürfte in diesem Sinne aufgefasst werden.

[3]) Vergebens suchte ich nach einer Begründung dieser Anschauungen in dem langen Aufsatze von Chauncey Wright: On the uses and origin of arrangement of leaves in Plants, *Memoirs of the Americ. Acad. of sc.*, Vol. 9, Pl. 2, pag. 379, 1876.

[4]) Hubert Airy, On Leaf-Arrangement. Communicated by Charles Darwin. *Proceedings of the Royal Soc.*, T. XXII, pag. 298, 1874.

[5]) Das Auftreten der Achselknospen ist, wie früher gezeigt, eine Frage für sich, welche hier unerörtert bleiben kann.

[6]) Eine Schwierigkeit bleibt für mich bestehen in der Annahme der »sprungweisen« Vermehrung der Reihenzahl (man vergl. das Original). Das Verhältniss zwischen Umfang des Vegetationspunktes und Grösse der Basis der Anlage der Seitenorgane ist von Schwendener, wohl mit Recht, als von besonderer Wichtigkeit für die Erklärung der Blattstellungen bezeichnet worden.

gebracht. Nach dieser Hypothese besteht ferner der Nutzen des Blattstiels darin, »die Blattspreite zu befähigen, von einer ungünstigen Geburtsstätte das Beste zu machen«. Für die Ausarbeitung dieses Prinzips muss ich auf Airy's Abhandlung selbst verweisen[1]). Aus diesen kurzgefassten Angaben erhellt zur Genüge, dass die höheren Blattstellungen, bei der Annahme einer ursprünglichen zweizeiligen, der Thallustheorie des Sprosses keine unüberwindliche Schwierigkeiten entgegenbringen.

§ 6. *Auffassung der Wurzel als metamorphosirter Blattspross.*

Für jedermann, welcher dem anatomischen Baue der höheren Pflanzen, besonders der Gefässkryptogamen, Nachdenken gewidmet hat, kann es nicht zweifelhaft sein, dass die Wurzeln als metamorphosirte Sprossgebilde aufgefasst werden müssen[2]). Es ist besonders die durch van Tieghem und seine Schüler festgestellte Uebereinstimmung im Baue des Centralcylinders, des Pericambiums (Perizikels) und der Endodermis dieser beiden Organe, welche diese Metamorphose zur Sicherheit gebracht hat. Wurzel und Blattspross verhalten sich demzufolge zu einander, wie die verschiedenen Zooiden eines Thierstockes, z. B. einer Siphonophore. Betrachtet man mit E. Darwin und A. Braun den Spross als das pflanzliche Individuum, so müssen die Wurzeln als metamorphosirte Individuen aufgefasst werden.

Eine Schwierigkeit, welche sich hier bei oberflächlicher Betrachtung vorthut, ist die allgemeine endogene Entstehung der Wurzeln im Gegensatz zu der exogenen der Sprosse. Denkt man aber an die Wurzeln der Lycopodiaceen, wo man so zu sagen sieht, wie der Uebergang zwischen den beiden Bildungsweisen zustande kommt, und ferner an die exogenen Wurzeln der Cruciferen und von *Neottia*, so verschwindet diese Schwierigkeit gänzlich.

Erkennt man nun diesen Zusammenhang an, so sind theoretisch noch zwei verschiedene Möglichkeiten in Bezug auf die Natur der Wurzel zu unterscheiden. Für diejenigen, welche sich die Wurzeln phylogenetisch eben so alt denken, wie die Sprosse selbst, können die ersteren, eben wie die letzteren nur veränderte Thalluszweige sein: im umgekehrten Falle bleibt nur die Annahme übrig, die Wurzeln seien aus den Blattsprossen selbst hervorgegangen. Endlich muss es als möglich betrachtet werden, dass die Wurzeln sowohl durch die Umwandlung eines Thallus, wie durch diejenige eines Blattsprosses entstanden sein können. Organe sui generis, dass heisst Bildungen, welche sich gänzlich selbständig, aus unscheinbaren Anlagen, im Laufe der Zeit allmählich entwickelt haben, sind die Wurzeln natürlich nicht.

Das Vorkommen wurzelähnlicher Gebilde bei gewissen Moosen, wie *Haplomitrium Hookeri* und *Sendtnera Sauteriana*, spricht jedenfalls für die Möglichkeit einer Entstehung von Wurzeln aus Thalluszweigen, da der Thallus in dieser Klasse

[1]) Die Diagramme, welche bei der Ueberreichung von Airy's Abhandlung der Royal Society vorgelegt wurden, aber nicht veröffentlicht worden sind, waren nahezu identisch mit den von Schwendener in den *Baseler Berichten* von 1875 so wie in seiner »Theorie der Blattstellungen« in Druck gegebenen.

[2]) Auch Airy und C. Darwin sind dieser Meinung.

sicher einmal vorgeherrscht hat. Inzwischen wird diese Ansicht durch die genannten Arten nicht direct gestützt, weil hier die Ausbildung des Blattsprosses schon vollständig vorliegt und die Rhizoide in diesem Falle noch so deutlich ihre Sprossnatur zur Schau tragen, dass sie auf den Namen wahrer Wurzeln kaum Anspruch machen können und sich auch sicher nicht als Umwandlungsgebilde von Verzweigungen eines früheren thallösen Stadiums ergeben. Es scheint selbst, dass der Gegensatz zwischen wahren Wurzeln [1]) und Sprossen bei den niedersten Gefässkryptogamen, welche den Farnen vorausgegangen sein müssen, noch nicht einmal zur Ausbildung gelangt war, denn die Verhältnisse der Hymenophyllaceen und der Dichotomen zeigen, dass eben in diesen, schon so hoch differenzirten Abtheilungen, die Entstehung von Wurzeln in phylogenetischem Sinne zustande gekommen ist. Nach den Angaben von G. Mettenius [2]) gibt es nämlich eine beträchtliche Anzahl von Hymenophillaceen, welche in ihren unterirdischen wurzelähnlichen Sprossen unzweifelhaft Uebergangsgebilde zwischen Stengeln und Wurzeln besitzen. Bei einigen dieser Arten sind an den wurzelartigen Rhizomen deutliche Blattrudimente auffindbar, während dieses bei den andern nicht mehr der Fall zu sein scheint; ob diese Rhizome immer exogen sind, wie die Knospen, und an deren Stellen entstehen, ist merkwürdigerweise bisher gänzlich unerforscht geblieben, eben, wie auch die übrigen Fragen, welche sich auf diese interessante Bildungen beziehen, noch der Beantwortung verharren [3]). Soviel kann jedoch schon als sicher betrachtet werden, dass die wahren Wurzeln, welche in dieser Familie angetroffen werden, jedenfalls zum Theile durch die Metamorphose beblätterter Stengel entstanden sein müssen. Da gewisse Hymenophyllaceen selbst gegenwärtig noch vollständig thallös vorkommen [4]) kann zwar auch hier an die Möglichkeit der Entstehung von Wurzeln aus Thalluszweigen gedacht werden, allein die vorliegenden Beobachtungen können für diese Ansicht nicht als beweisend betrachtet werden.

Was ferner die Dichotomen anbelangt, so sind bekanntlich die Rhizoide von *Psilotum triquetrum* durch Nägeli untersucht [5]), und er fand verschiedene Uebergangsstadien zwischen mit deutlichen Blättchen besetzten Rhizomen und glatten blattlosen Sprossen, an welchen letzteren er nur in der Zellanordnung an bestimmten Stellen Blattrudimente aufzufinden vermochte. Ein noch schöneres Beispiel für

---

[1]) Sachs hat neuerdings unter dem Begriff Wurzel viele Organe zusammengefasst, welche keine Wurzeln sind, und dadurch einem allbekannten botanischen Begriffe eine ganz neue Bedeutung gegeben. Ich werde die ältere Auffassung des Wortes beibehalten.

[2]) Ueber die Hymenophyllaceae, *Abh. d. K. Sächs. Ges. d. Wiss.* Bd. XI. pag. 406. 1865. Begreife ich Mettenius wohl, so sind die folgenden Arten wurzellos: *Trichomanes concinnum, T. saxifragoides, T. Henzeianum, T. Petersii, T. sublimbatum, T. Hookeri, T. punctatum, T. cuspidatum, T. membranaceum, T. nummularium, T. pusillum, T. Krausii, T. intramarginale, T. latemarginale, T. Borbonicum, T. melanostriatum, T. acutilobum, T. Schmidianum, T. emarginatum, T. cavitolium, T. humile, T. Filicula, T. bilobatum, T. melanorhizum* und *T. capillatum.*

[3]) Mir fehlte die für eine solche Untersuchung unentbehrliche Bodenwärme. In Prantl's Monographie ist diese Angelegenheit übergangen.

[4]) Professor de Bary hatte die Freundlichkeit, mir im Strassburger Garten eine solche thallose Hymenophyllacee zu zeigen, welche anfangs für ein Lebermoos gehalten worden war.

[5]) Entstehung und Wachsthum der Wurzeln, *Beitr. z. Wiss. Bot.* Heft IV, pag. 147, 1868

die nahe Verwandtschaft zwischen Spross und Wurzel liefern die Wurzelträger[1]) von *Selaginella*, von welchen wir gesehen haben, mit welcher grossen Leichtigkeit sie sich unter bestimmten Bedingungen in Sprosse zurückzuverwandeln vermögen. Die Rhizoide von *Selaginella* und *Psilotum* entstehen durch exogene Dichotomie, dass diese aber leicht in endogene Verzweigung übergehen und auf welche Weise dieses geschehen kann, lehrt die Entstehung der Seitenwurzeln bei *Lycopodium*.

Das Hauptargument für die Theorie der Herkunft der Wurzeln aus Sprossgebilden ist, wie schon im Anfange dieses Paragraphen hervorgehoben, in der Uebereinstimmung im anatomischen Baue beider Organe, besonders ihrer Centralcylinder, gelegen. Van Tieghem und seine Schüler[2]) haben diese Sache in den letzten Jahren so ausführlich bearbeitet, dass ich wohl verzichten kann, darauf näher einzugehen, dieses um so mehr, als ich über den nach meiner Ansicht besonders wichtigen Ursprung von Pericambium und Endodermis im Stengel und in der Wurzel der Lycopodiaceen zum Augenblicke keine neue Beobachtungen mittheilen kann. Ein Paar Bemerkungen über die phylogenetische Entstehung des Centralcylinders, welche die oben ausgesprochene Behauptung, dass die Wurzeln phylogenetisch späte Bildungen sein müssen, auch in anatomischer Beziehung begründen, mögen aber an dieser Stelle noch Raum finden. Die Farnkeimpflanzen besitzen gewiss die einfachste und meist primitive Structur, welche bei den Gefässpflanzen existiren kann, und dieselben können uns möglicherweise ein Bild geben von dem Baue der weiter zurückliegenden Vorfahren. Nun ist es aber bemerkenswerth, dass bei ihnen der Centralcylinder noch nicht existirt, sondern durch ein einzelnes Gefässbündel ersetzt wird. So besitzt der Keimling von *Aspidium Filix mas* »nach $^1/_3$-Divergenz geordnete Blätter, deren einzählige Bündel im Stämmchen sympodial zu einem axilen Strange vereinigt sind«[3]), erst oberhalb des 5. oder 6. Blattes geht die Blattstellung in $^3/_8$ über und beginnt die Bildung »des netzförmigen Bündelrohres«, dass heisst also des Centralcylinders. Der Centralcylinder der Wurzel entspricht, in dem Baue, unter welchem wir denselben gegenwärtig kennen, offenbar nur diesem höheren Entwicklungsstadium des Stengels, was auf eine späte Entstehung im phylogenetischen Sinne hinweist. Da für diese Auffassung auch die oben wiederholt beschriebene Entstehung von Wurzeln bei verschiedenen Abtheilungen der Gefässkryptogamen spricht, scheint alles darauf hinzudeuten, dass die Wurzeln erst entstanden sind, nachdem die Gefässpflanzen das Thallusstadium schon verlassen hatten, und dass sie desshalb nichts anderes als metamorphosirte Blattsprosse sein können.

Diese Betrachtungen führen noch zum Schlusse, dass es nicht richtig wäre, Knospen und Wurzeln als einseitig reduzirte Embryonen zu betrachten, — offenbar sind die Nebenwurzeln das primäre, die Hauptwurzel das secundäre Glied in der Entwicklungsreihe gewesen. Dadurch erklärt sich einigermaassen, warum in den

[1]) Sowohl die Wurzelträger von *Selaginella*, wie die Nebenwurzeln von *Lycopodium* führen Blattgrün.

[2] L. Morot, Recherches sur le péricycle, *Ann. d. sc. nat. Bot.*, 6e Sér., T. 20, pag. 299, 1885; J. Hérail, Recherches sur l'anatomie comparée de la tige des Dicotyles, *Ann. d. sc. nat.*, 7e Sér. T. 2, pag. 203, 1885; P. Marié, Recherches sur la structure des Rénunculacées, *Ann. d. sc. nat. Bot.* 7e Sér. T. 2, pag. 1, 1885.

[3]) De Bary, Vergleichende Anatomie, pag. 296, 1877.

Embryonen von Farnen. Equiseten und vielen Monocotylen die Richtung der Hauptwurzelanlage einen stumpfen oder selbst beinahe einen rechten Winkel mit der Längsachse der Keimknospe bilden kann, und warum die Hauptwurzel am Embryo gewöhnlich endogen entsteht.

Die relativ späte phyletische Entstehung der Wurzeln aus den Sprossen erklärt ferner bis zu einem gewissen Grade den in den vorhergehenden Seiten so vielfach nachgewiesenen directen Uebergang der Wurzelanlagen in Knospen, einen Uebergang, welcher offenbar viel Aehnlichkeit mit Atavismus im gewöhnlichen Sinne besitzt, sich davon aber unterscheidet, dadurch, dass nicht die Sprossform des Urahnes, sondern diejenige der Pflanze selbst erscheint.

Figuren- und Buchstabenerklärung.

BUCHSTABENERKLÄRUNG.

ax Centralcylinder.
bn Blattnarbe.
bs Blattspross.
bw Wurzelträgerbasis.
cb Cambium.
cc Centralcylinder.
cl Callus.
cp Primäre Rinde.
cs Secundäre Rinde.
ct Cotyledonen.
gf Gefässbündelgeflecht.
gr Wurzelknospe.
gw Galiumwurzel.
hg Gefässe des secundären Holzes.
hp Hypocotyl.
hs Haustorium.
kw Kern einer Seitenwurzel oder Seitenknospe.
kz Secretführende Zellen oder Interzellularräume.
lt Luftreies Gewebe.
lg Lufthaltiges Gewebe.
lk Luftkanäle.
ms Markstrahlen.
oB Oberfläche des Bodens.
ow Orobanchewurzeln.
pd Periderm.
ph Phloëm.
pr Pericambium oder Perizikel.
rl Seitenwurzel.
rm Mutterwurzel.
sb Siebbündel.
sc Sclerenchymfaserbündel.
sh Phloëmscheide.
sk Stammknospe.
st Stipulae.
sz Steinzellen.
vp Vegetationspunkt.
wm Wurzelmütze.
wt Wurzelträger.
wz Wurzeln.
xp Primäres Holz.
xs Secundäres Holz.

FIGURENERKLÄRUNG.

Die Vergrösserung ist zwischen Klammern angegeben.

TAFEL I.

Selaginella, Populus, Rumex, Anemone.

Selaginella.

Fig. 1. *Selaginella Martensii.* Veränderung eines Wurzelträgers in den Blattspross *bs*; *bw* dessen Basis; *bw'* Basis eines unveränderten Wurzelträgers; *wt* (oben) neuerzeugter Wurzelträger am Blattspross *bs*; *wz* die dichotomirenden Wurzeln.

Populus alba.

Fig. 2. Skizze der Wurzelformen der Weisspappel; *rm* Mutterwurzel, aus welcher fünf ähnliche Wurzeln entspringen, von diesen ist eine, die Seitenwurzel *rl* vollständig, die übrigen sind theilweise ausgeführt, *rl'* die Seitenwurzeln letzterer Ordnung von eigenthümlichem Baue, mit Pilzmycel bekleidet.

Fig. 3. Eine ältere Gerüstwurzel mit Knospencallus *cl*, worauf Wurzelsprosse *gr*, und mit Lateralwurzeln *rl* und *rl'* der beiden Formen.

Fig. 4 (13). Querschnitt der Gerüstwurzel aus voriger Figur, um den Ursprung des Callus *cl* aus der Basis der Seitenwurzel *rl* und die Entstehung der Knospen *gr* zu zeigen. Die Wurzel zeigt fünf primäre Holzbündel *xp*; *cb* der Cambiummantel, *cs* die secundäre Rinde, *ax* der Centralcylinder der Seitenwurzel, verfolgbar in der Mutterwurzel.

Populus italica.

Fig. 5. Eine alte Wurzel der Pyramidenpappel als Steckling gebraucht. Die Wurzelsprossen *gr* entstehen nicht aus dem eigentlichen Callus *cl*, sondern auf der Basis der Nebenwurzel *rl* selbst.

Rumex Acetosella.

Fig. 6. Normale Seitenwurzelbildung aus einer Wurzel. Die Seitenwurzeln stehen entweder einzeln, oder in Gruppen zu zweien, rl_1 und rl^1, oder zu dreien, rl_1, rl^1, rl^1, hinter einander. Die Wurzelspitze ist noch mit der primären Rinde *cp* überzogen, übrigens ist letztere abgeworfen und die secundäre Rinde *cs* sichtbar.

Fig. 7. Eine ältere Wurzel mit Wurzelknospen *gr*, welche neben den Seitenwurzeln *rl* sitzen; *vb* Vorblatt einer Knospe; *ra* eine Adventivwurzel des Wurzelsprosses.

Fig. 8. Eine Wurzel *rm* mit Seitenwurzelgruppen. In der linken unteren Gruppe sieht man neben der normalen Seitenwurzel rl^1 die Seitenwurzel rl_1, welche an ihrer Basis zwei Blätter *vb* und f^1 trägt und offenbar durch die Umwandlung einer Knospe entstanden ist. Auch in der oberen Seitenwurzelgruppe bemerkt man ein solches Uebergangsgebilde.

Fig. 9. Längsschnitt durch eine Seitenwurzelgruppe mit einer Uebergangsbildung rl_1, welche an ihrer Spitze Wurzel ist und Wurzelhaare und Wurzelmütze *wm* trägt, an ihrer Basis dagegen Stengelnatur hat und das Vorblatt *vb* trägt; rl^1 die unveränderte Seitenwurzel; *cs* die aufgerissene secundäre Rinde.

Fig. 10. Querschnitt einer Uebergangsbildung zwischen Wurzel und Spross. Die oberen Schnitte *a*, *b*, *c* zeigen Stengelnatur, die unteren *d* und *e* den Bau einer normalen zweizähligen Wurzel.

Fig. 11. Eine alte vierzählige Wurzel im Querschnitt. In der secundären Rinde *cs* verborgen sieht man drei Wurzelsprosse *gr*; *xs* ist das secundäre Holz von den vier dicken Markstrahlen *ms* durchschnitten, *cb* das Cambium, *pd* das Periderm.

Anemone sylvestris.

Fig. 12. *a* bis *g* verschiedene, durch ihre sehr wechselnde Stellung merkwürdige Sprossknospen; rl^1 und rl^2 zwei zu einer Gruppe gehörige Seitenwurzeln; *bh* die Stellen mit der eigenthümlichen Behaarung.

TAFEL II.

Anemone, Brassica, Nasturtium, Alliaria, Cochlearia, Geranium.

Anemone sylvestris.

Fig. 13 (17). Längsschnitt einer Wurzel, welche eine Seitenwurzel *rl*, neben dieser eine Sprossknospe *gr* und dieser gegenüber eine sehr junge Anlage *gr'* einer anderen Sprossknospe trägt. Die Wurzel ist zweizählig, *xp*, *xp* sind die beiden Xylembündel, *pr* die Producte des Pericambiums, *cp* die primäre Rinde.

Brassica oleracea.

Fig. 14. Die gewöhnliche Seitenwurzelstellung bei den Kohlwurzeln. Neben den in Gruppen vereinigten Seitenwurzeln *rl*, rl^1, rl^2 sieht man den Callus *cl*.

Fig. 15. Die Stellung der Knospen *gr* auf der Kohlwurzel; die Knospen befinden sich entweder (*gr*) auf dem Callus *cl* oder (*gr'*) auf den Seitenwurzeln *rl* selbst.

Fig. 16. Rotherkohlwurzel mit Wurzelsprossen *gr*, Seitenwurzeln *rl* und Callus *cl*.

Fig. 17. Die Stellung der Wurzelsprosse *gr* und der Seitenwurzeln *rl'*, rl^2 auf einem Lateralcallus *cl*, stärker vergrössert.

Fig. 18. Querschnitt durch die untere Seitenwurzel der Fig. 15 am Orte von *gr'*. Die junge Knospe ist noch mit der Wurzelhaube *wm* überdeckt; *cp* die primäre Rinde, im Begriff abgeworfen zu werden; *rl* eine sehr junge Seitenwurzelanlage im Phloem *pr*; *xs* das secundäre Holz.

Nasturtium sylvestre.

Fig. 19. Eine Mutterwurzel *rm* mit zwei Reihen von Seitenwurzeln *rl*. Neben diesen die Wurzelsprosse *gr*. Die Adventivwurzeln *ra* der Sprosse sitzen einzeln oder zu Gruppen vereinigt in den Blattachseln.

Alliaria officinalis.

Fig. 20. Eine junge Pflanze mit hypocotylischen Sprossen und Wurzelsprossen *gr*, *gr'*. Das Hypocotyl *hp* ist oberhalb der Bodenoberfläche *oB* noch theilweise mit der primären Rinde *cp* bedeckt, diese zerreisst nach unten, sodass die Knospen auf der secundären Rinde sitzen. Die Blätter besitzen Stipelpaare *st*.

Fig. 21. Ein kleines Stück einer Hauptwurzel mit zwei Knospen, welche auf der secundären Rinde *cs* sitzen. Das erste Blatt *f'* ist nach unten, das zweite f^2 nach oben gekehrt; auch hier sind die früh absterbenden Stipeln *st* zu sehen.

Cochlearia Armoracia.

Fig. 22. Gewöhnliches Aussehen eines viele Wurzelknospen tragenden Meerrettigs. Die Wurzel ist vierstrahlig, die vier den Strahlen entsprechenden Knospenreihen *gr* gehören zu den Seitenwurzelgruppen *rl*, *rl'*.

Fig. 23. Ein als Steckling gepflanzter Meerrettig stärker vergrössert. Jede Knospe sitzt unten auf einer Seitenwurzelbasis *rl* und trägt selbst die erste Adventivwurzel *ra*. Oben sieht man in einer einzigen Gruppe drei Knospen *gr'*, gr^2 und gr^3, welche zu den zwei Seitenwurzeln rl^2 und rl^2 gehören.

Fig. 24. Ein weiter entwickeltes Stadium, übrigens wie die vorige Figur.

Fig. 25. Quadrant eines Wurzelquerschnittes mit einer Sprossknospe auf der Basis einer Seitenwurzel *rl*; *gf* das Gefässbündelgeflecht von einer Phloëmscheide *sh* eingeschlossen.

Fig. 26. Anderer Querschnitt. Beim Dickenwachsthum sind Seitenwurzel *rl* und Knospe vollständig isolirt vom Holzkörper der Mutterwurzel, sodass das Gefässbündelgeflecht *gf* nicht mit dem Inneren der Wurzel zusammenhängt.

Fig. 27. Die Stellung der Adventivwurzeln *ra* am Stengel. Dieselben stehen in einer horizontalen Reihe rechts und links neben einer Seitenknospe *sk*; *bn* die Blattnarbe.

Geranium sanguineum.

Fig. 28. Eine sprossende Wurzel. Die Seitenwurzeln *rl* sitzen neben callusartigen Wucherungen *cl*, welche entweder ein oder zwei Rudimente von anderen, nicht weiter entwickelten Seitenwurzeln enthalten, oder Blattknospen *gr* den Ursprung geben.

Fig. 29*a* (13). Querschnitt durch eine Wurzel mit Callusgeschwulst *cl*, worin man unten den »Centralcylinder« *ax* sieht, welcher auf Seitenwurzelmetamorphose hindeutet und der sich höher im Callus öffnet; zur vollständigen Entfaltung einer Knospe ist der Callus aber nicht gelangt; *xp* die zweizählige primäre Gefässplatte, *sc* Sclerenchymfaserbündel, *hg* Holzgefässe des secundären Holzes, *ms* Markstrahlen, *cb* Cambium.

Fig. 29*b* (13). Längsschnitt einer ähnlichen Callusgeschwulst, wie in der vorigen Figur dargestellt. Der Callus *cl* ergibt sich als eine Hemmungsbildung einer Seitenwurzel.

TAFEL III.

Geranium, Ailanthus, Sium, Euphorbia, Epilobium.

Geranium sanguineum.

Fig. 30 (13). Querschnitt einer Wurzel mit Knospe *gr* und Callus *cl*. Bezeichnung der Buchstaben wie in voriger Figur.

Ailanthus glandulosa.

Fig. 31. Ansicht einer Wurzel von *Ailanthus glandulosa* mit Seitenwurzeln *rl*, welche jede zwischen zwei Callusstreifen *cl* sitzen, und Wurzelknospen *gr*, diese entweder regellos oder neben den Callusstreifen.

Fig. 32 (13). Querschnitt einer Wurzel, um den Ursprung der Seitenwurzel *rl*, des Callus *cl* (links und rechts) und der Knospe *gr* zu zeigen; *xp* die drei primären Holzbündel, *ms* Markstrahlen, *hg* Gefässe des secundären Holzes, *cb* Cambium, *ph* Phloëmbündel, *sc* Steinzellgruppen, *pd* Periderm, *gf* Gefässbündelchen der Knospe, welche einen sehr einfachen Centralcylinder bilden, welcher blind im Callus endet.

Sium latifolium.

Fig. 33. Eine Siumwurzel, theilweise ohne primäre Rinde *cp* gezeichnet, um die Stellung der Knospen *gr* an der Basis der Seitenwurzeln *rl* zu zeigen, *ra* die ersten Wurzeln der Knospen.

Fig. 34. Gewöhnliche Ansicht einer älteren Wurzel, welche ihre primäre Rinde verloren hat, *gr* die Knospen an der Basis der Seitenwurzeln *rl*.

Fig. 35. Eine Wurzel *rm* mit zwei zu jungen Pflanzen entwickelten Wurzelknospen, *rl* die Seitenwurzeln, auf deren Basis sie sitzen, *ra* die ersten Nebenwurzeln der jungen Pflänzchen.

Fig. 36 (35). Querschnitt durch eine Wurzel mit Knospe *gr* und Seitenwurzel *rl*, *ra* erste Nebenwurzel. In der primären Rinde befinden sich 15 Luftkanäle *kn*.

Fig. 37. Schema der Stellung der Knospen *gr* neben der Basis der Seitenwurzeln *rl*, in Bezug auf die Mutterwurzel *rm*.

Fig. 38. Schema der Blattstellung der Wurzelsprosse in Bezug auf Seitenwurzel *rl* und Mutterwurzel *rm*; f^1, f^2, f^3 die drei ersten Blätter einer Knospe.

Euphorbia Esula.

Fig. 39. Ansicht einer knospentragenden Wurzel von *Euphorbia Esula*; *gr* die Wurzelknospen, zu den Seitenwurzeln *rl* gehörig; *sk* Stammknospen; diese haben, eben wie die Stengel selbst, nur sehr geringe Neigung zur Erzeugung von Adventivwurzeln [1]).

[1]) In der letzten Zeit untersuchte ich auch *Euphorbia Paralias* (Seedünen bei Loosduinen); die Wurzelknospen verhalten sich genau wie die der übrigen Arten. Adventivwurzeln an den Stengeln sind auch hier selten, jedoch leichter zu finden wie bei *E. Esula*; dieselben sitzen vereinzelt unterhalb der Knospen und durchbohren die Blattbasis oder befinden sich in dieser Richtung noch etwas tiefer hinab.

Epilobium angustifolium.

Fig. 40. Uebersicht aller beobachteten Modificationen in der Seitensprossung einer älteren vierstrahligen Wurzel, im October ausgegraben.

a) Ein Sprossverband, welcher drei Jahrgänge umfasst.
  I. Die Narbe des vorjährigen Stengels.
  II. Basis des diesjährigen, unten nicht abgestorbenen Stengels mit Seitenknospen *sk*, welche in ihren Achseln Adventivwurzeln *ra* erzeugen.
  III. Die Winterknospe.
b) Vereinzelt hervorsprossende Wurzeln.
c) Eine Wurzel mit einer Wurzelknospe.
d) Zwei Wurzeln mit einer Knospe.
e) Gruppe von zwei Wurzeln.
f) Zwei Wurzeln mit einer Knospe.
g) Eine Wurzel mit zwei Knospen.
h) Gruppe von drei Wurzeln.
i) Gruppe von zwei Wurzeln und zwei Knospen.
k) Gruppe von zwei Wurzeln mit einer Knospe.
l) Eine Knospe neben einer Wurzel auf einer Seitenwurzel, um zu zeigen, dass die Knospe in der »Unterachsel« der zugehörigen Seitenwurzel sitzen kann.
m) Eine Gruppe von drei Wurzeln auf der Seitenwurzel.

TAFEL IV.

Hippophae, Rubus Rosa, Spiraea, Coronilla, Monotropa, Convolvulus.

Hippophae rhamnoides.

Fig. 41*a*. Uebersicht der beobachteten Modificationen.

a) Gruppe von zwei Wurzeln.
b) Eine Wurzel.
c) Gruppe von drei Wurzeln.
d) Gruppe von zwei Wurzeln mit vier Knospen, wahrscheinlich umgewandelte Wurzeln.
e) Wurzel mit einer Knospe daneben.
f) Zwei Wurzeln mit vier Knospen daneben.
g) Wurzel mit Knospengruppe.
h) Wurzel mit Knospe auf der Basis.

Fig. 41*b*. Querschnitt einer zweizähligen Wurzel, eine Knospe und eine Seitenwurzel treffend.

Rubus Idaeus.

Fig. 42. Eine vierstrahlige Wurzel; die Wurzelsprossen stehen in den Reihen der Seitenwurzeln, übrigens von diesen gewöhnlich unabhängig; *a, b* und *c* treibende Knospen, *d* ruhende Knospen, *e* eine in der Achsel einer Seitenwurzel sitzende Knospe.

Rosa pimpinellifolia.

Fig. 43. Eine Knospe *gr*, welche aus der secundären Rinde *cs* einer dreistrahligen Wurzel entstanden ist und welche das Periderm *pd* zerrissen hat; sie entspricht ungefähr einer der primären Markstrahlen *ms*, übt aber durchaus keinen Einfluss auf die anatomische Structur der Wurzel aus, sodass die Sklerenchymfaserbündel *sc* ununterbrochen unterhalb der Knospe verlaufen. In der Rinde sind angegeben das luftführende Gewebe *lg* und das luftfreie Gewebe *lf*, welches letztere z. Th. aus den Phloëmbündeln, anderntheils aus dem Stärkgewebe besteht. In dem secundären Holze *xs* sieht man die Gefässe und im Centrum der Wurzel die drei primären Holzbündel *xp*.

Spiraea Filipendula.

Fig. 44. Stück einer fleischigen dreizähligen Wurzel, als Steckling gepflanzt. Die Knospen *gr* entstehen aus der Seitenwurzelbasis. Neue Seitenwurzeln *rl'* entstehen ebenfalls nur neben den schon alten Seitenwurzeln *rl*.

Coronilla varia.

Fig. 45. Die gewöhnlich vorkommenden Fälle, wobei die Wurzelknospen *gr* in der Oberachse der secundären Seitenwurzeln stehen; so ist es jedoch nicht immer.

Fig. 46. Schema der Knospenstellung in Bezug auf die secundären Seitenwurzeln.

Fig 47. Querschnitt einer dreistrahligen Wurzel mit einer Seitenwurzel *rl* und einer Knospe *gr*. Diese Letztere ruht auf dem Gewebe des Knospenkernes *kw*[1]; *kw* der Kern der längsdurchschnittenen Seitenwurzel, *cs* secundäre Rinde, *xs* secundäres Holz, *cb* Cambium, *ms* Markstrahlen.

Fig. 48. Schema der Stellung der ersten Blätter an den Wurzelknospen *gr* in Bezug auf die zugehörige Seitenwurzel *rl*, die Pfeile deuten die Wachsthumsrichtung der beiden gemeinsamen Mutterwurzel an.

Monotropa Hypopitys.

Fig. 49*a*. Ein sorgsam präparirtes Wurzelsystem mit vier Sprossknospen *gr*, wovon zwei, abweichend von dem gewöhnlichen Verhalten, in den der Mutterwurzelspitze zugekehrten Achseln der zu ihnen gehörigen Seitenwurzeln *rl* sitzen. Die Sprosse stehen an den Stellen von Seitenwurzeln.

Fig. 49*b* (13). Längsschnitt einer Wurzel mit zwei Knospen *gr* und *gr'* und einer Seitenwurzel *rl*; *cp* die primäre Rinde, welche nicht abgeworfen wird, *pr* die Producte des Pericambiums.

Fig. 49*c* (13). Querschnitt einer Wurzel, um zu zeigen, dass die Seitenwurzel nicht allein aus dem dreistrahligen Centralcylinder, sondern auch aus den inneren Schichten der primären Rinde entsteht.

Convolvulus arvensis.

Fig. 50. Keimpflanze im October, mit Wurzelknospen *gr* auf Hypocotyl und Wurzel, *OB* Bodenoberfläche.

Fig. 51 (13). Längsschnitt durch das Hypocotyl, zwei Knospen treffend; f', f^2 deren erste Blätter, *kz* äussere krystallführende Zellschicht des Centralcylinders, *pr* aus dem Pericambium hervorgegangene Producte, *xs* secundäres Holz, *cp* primäre Rinde.

Fig. 52, 53 (und 54 Taf. V). Successive Querschnitte des Hypocotyls an der Stelle, wo eine Knospe steht; die Luftkanäle *lk* liegen ringförmig um den Centralcylinder angeordnet. In den Blättern f' und f^2 sind drei Gefässbündel sichtbar. Uebrige Buchstaben wie in Fig. 51.

TAFEL V.

Convolvulus, Solanum, Linaria.

Convolvulus arvensis.

Fig. 54. Erklärung bei der vorigen Figur.

Fig. 55 (13). Querschnitt der eine Knospe tragenden Uebergangsstelle des Hypocotyls in die Hauptwurzel; die acht Holzbündel *xs* sind noch getrennt.

Fig. 56 (26). Querschnitt durch eine Wurzel mit Wurzelknospe. Die acht Holzbündel *xs* des Hypocotyls sind zu vier verschmolzen; *xp* die vier primären Gefässplatten der Wurzel, *pr* Producte des Pericambiums, *lk* Luftkanäle, *cp* primäre Rinde, *vp* Vegetationspunkt der Knospe, *f* Blatt.

Solanum Dulcamara.

Fig. 57. Ansicht einer horizontal in feuchten Sand gelegten Wurzel mit Callus *cl* neben den Seitenwurzelbasen *rl* und daraus entstandene Wurzelknospen *gr*.

Fig. 58. Eine als Steckling behandelte Wurzel, welche keine Sprossknospe, sondern neue Seitenwurzeln entwickelt hat; neben zwei Seitenwurzeln rl^1 ist eine zweite Seitenwurzel rl_1 der nämlichen Ordnung entstanden.

Fig. 59 und 60 (13). Entwicklung einer solchen nachkommenden Seitenwurzel der ersten Ordnung rl_1; dieselbe entsteht in der Tiefe der secundären Rinde *cs; pd* Periderm, *cb* Cambium, *xs* secundäres Holz, *xp* primäre Gefässplatten, rl^1 gewöhnliche Seitenwurzel.

Fig. 61 (26). Eine Knospe *gr* hat sich scheinbar genau an der Stelle der nachkommenden Seitenwurzel entwickelt, jedoch muss dieselbe wahrscheinlich als zum Callus *cl* gehörig betrachtet werden; *gf* die Gefässbündelverbindung der Knospe mit dem Holzcylinder der Mutterwurzel.

Fig. 62 (13). Querschnitt durch einen Callus *cl* mit vier Knospen *gr*; der Centralcylinder *cc* einer Seitenwurzel ist in der Mitte sichtbar.

Linaria vulgaris.

Fig. 63. Keimpflanze mit sechs hypocotylischen Knospen und Sprossen *1—6*; *hp* das Hypocotyl, *ct* die Cotyledonen, *65* und *66* die Stellen, wo die Querschnitte für die Figuren 65 und 66 genommen sind.

Fig. 64 (13). Drei Knospen auf dem Hypocotyl *hp*; dieselben sind exogen.

Fig. 65 und 66 (13). Querschnitt der Verbindungsstelle des Hypocotyls *hp* mit dem Sprosse *6* der Fig. 63; *cp* primäre Rinde, *pr* peripherische Producte des Pericambiums, *cc* Centralcylinder von Spross *6*, *xs* secundäres Holz vom Hypocotyl.

Fig. 67. Ansicht einer sprossenden Wurzel; ein bis vier Sprosse *gr* stehen rings um die Basis der Seitenwurzeln *rl*.

Fig. 68 (17) und 69 (38). Entwicklung der Knospen *gr* aus der primären Rinde cp^2 der Seitenwurzel *rl*, welche noch in der primären Rinde cp^1 der Mutterwurzel *rm* eingeschlossen liegt; xs^1 secundäres Holz der Mutterwurzel, xs^2 der Seitenwurzel; cs^1 und cs^2 secundäre Rinde, *kw* verholzter Kern der Nebenwurzel im Holz der Mutterwurzel.

Fig. 70. Schema der Stellung der Knospen *gr* in Bezug auf Mutterwurzel *rm* und Seitenwurzel erster Ordnung rl^1 und zweiter Ordnung rl^2.

TAFEL VI.

Orobanche, Cirsium, Picris, Aristolochia.

Orobanche galii auf *Galium verum.*

Fig. 71. Verwachsung zweier dicker Orobanchewurzeln *ow* mit den Wurzeln von *Galium verum gw;* auf den Orobanchewurzeln sitzen »Morgensterne« mit Wurzelknospen *gr*, diese haben wieder Adventivwurzeln *ra* erzeugt; *hs* Haustorien, welche theilweise mit Galiumwurzeln verwachsen sind.

Fig. 72. Eine Galiumwurzel *gw* mit einer sprossenden und Haustorien *hs* führenden Orobanchewurzel *ow*.

Fig. 73. Entwicklung eines Haustoriums *hs* aus der primären Rinde *cp*, augenscheinlich hinter einem Siebtheile des dreistrahligen Centralcylinders *cc*.

Fig. 74. Eine Knospe *gr* auf einer Orobanchewurzel *rm;* exogene Entstehung der Adventivwurzel *ra; cp^1* und cp^2 primäre Rinde der Mutterwurzel *rm* und der Adventivwurzel *ra*.

Cirsium arvense.

Fig. 75. Die verschiedenen zu beobachtenden Sprossungen einer Wurzel. Gewöhnlich sitzt jede Knospe *gr* in der Oberachse ihrer Seitenwurzel, also *rm* zugekehrt, bisweilen aber gesondert, wie *gr*[1]; *ra* Nebenwurzeln der Sprosse; *76* Erhabenheit innerhalb welcher eine Wurzel- und Sprossanlage. Das erste Blatt der Knospe ist der Seitenwurzel zugewendet.

Fig. 76. Die Erhabenheit *76* voriger Figur in Längsschnitt; *gr* die Knospe auf der Basis der Seitenwurzel *rl, cp* primäre Rinde, *sc* Secreträume der Endodermis, *cs* secundäre Rinde.

Fig. 77. Querschnitt einer Wurzel zugleich mit einer alleinstehenden Knospe *gr* und einer Seitenwurzel *rl*; *ep* Epidermis, *cp* primäre Rinde, *sz* secretführende Intercellularräume der Endodermis, *sb* primäre Siebbündel, *cs* secundäre Rinde, *xs* secundäres Holz, *xp* zweistrahlige Gefässplatte, *kw* verholzter Wurzelkern.

Picris hieracioides.

Fig. 78. Eine junge Pflanze, deren Hauptwurzel an den Austrittstellen der Nebenwurzeln kleine Geschwülste erzeugt hat, aus welchen die Knospen hervorbrechen, welche oft in der Oberachsel sitzen; die Lateralwurzeln sind nicht selten paarig.

Fig. 79. Querschnitt einer Wurzel mit einer Seitenwurzel *rl*, welche zwei Knospen *gr* an ihrer Basis trägt.

Fig. 80. Eine Knospe in der Achsel der Seitenwurzel *rl*; *cp* primäre Rinde mit Lufträumen *lk*, *cs* secundäre Rinde, *xs* secundäres Holz, *gf* Gefässbündelverbindung der Mutterwurzel.

Aristolochia Clematatis.

Fig. 81. Sprossende Wurzel *rm* und wurzelnder Spross *gr - sk*; *ra* die Nebenwurzeln, deren Stand in Bezug auf Knospe und Mutterorgan in den nebenstehenden Skizzen angegeben; der Wurzelspross *gr* trägt nur eine mediane, der Stammspross *sk* zwei laterale Nebenwurzeln, f^1 bis f^5 die Blätter eines Wurzelsprosses.

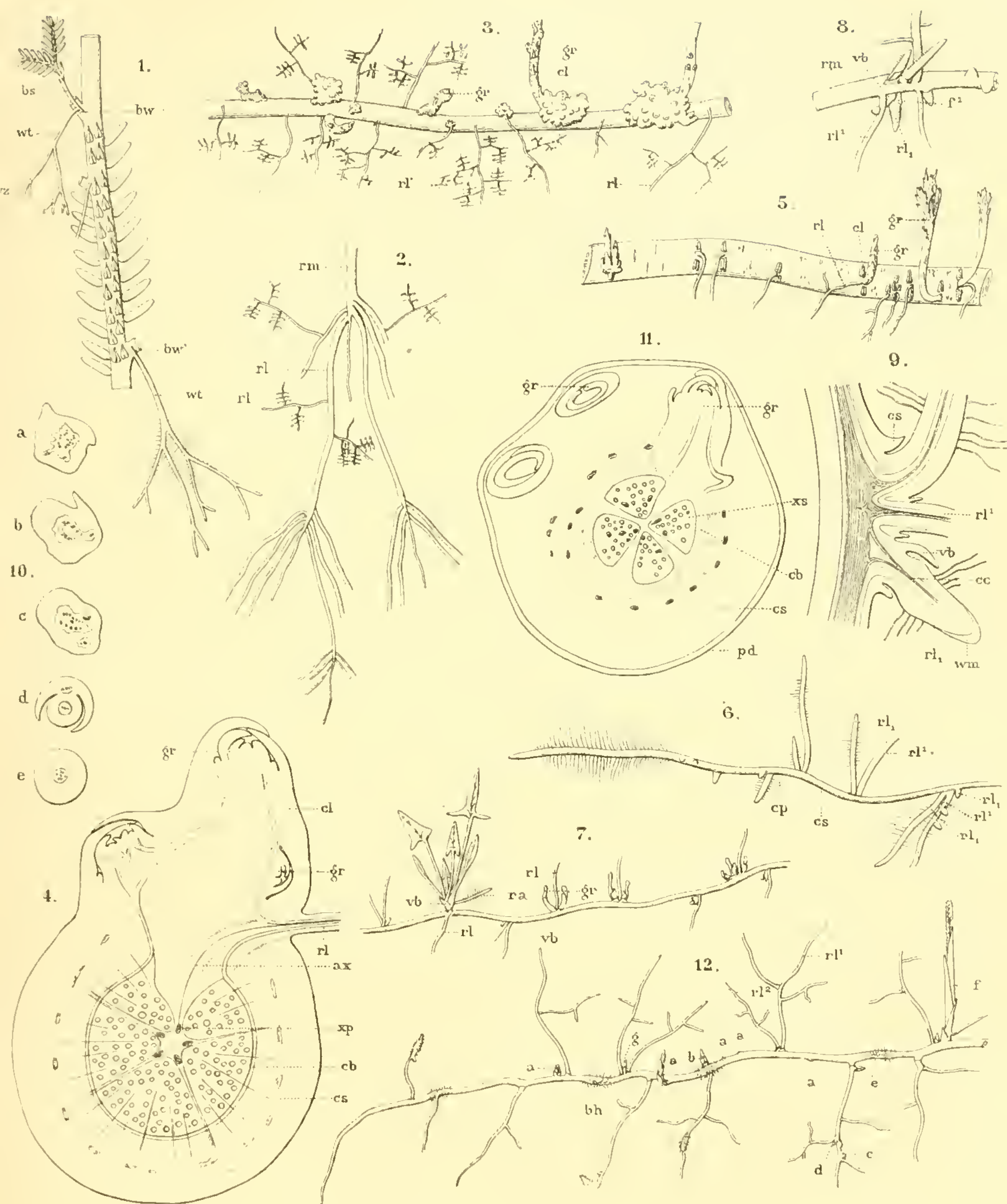
Fig. 82 (18). Längsschnitt einer Wurzel mit der exogenen Knospe; *cp* die primäre Rinde, f^1 und f^2 die zwei ersten Blätter der Knospe, *gf* die centripetal entstehende Gefässbündelverbindung der Knospe mit dem Centralcylinder der Mutterwurzel.

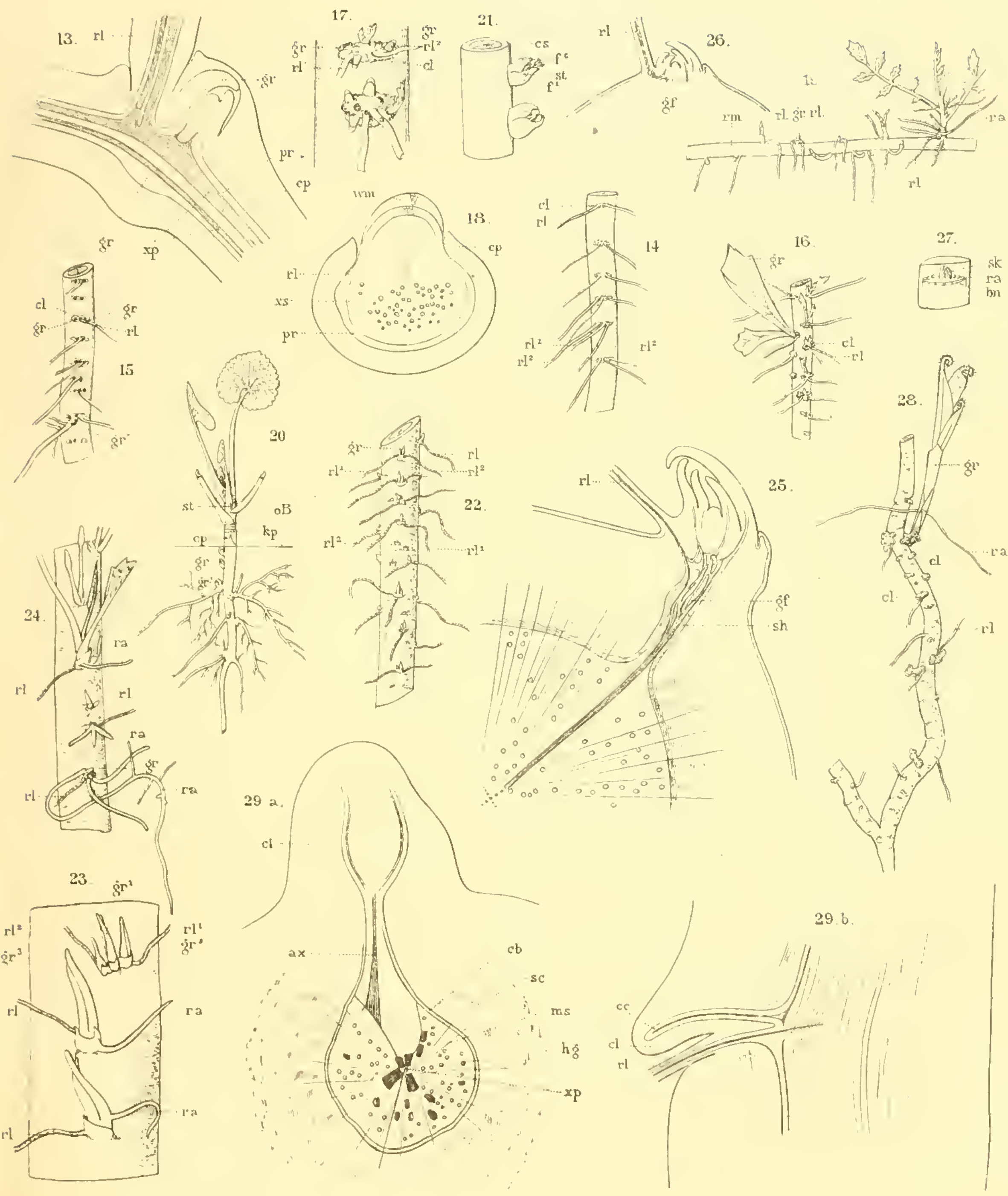
Fig. 83 (18). Querschnitt einer vierstrahligen Wurzel mit einer Knospe *gr; cp* primäre Rinde, f' erstes Blatt der Knospe.

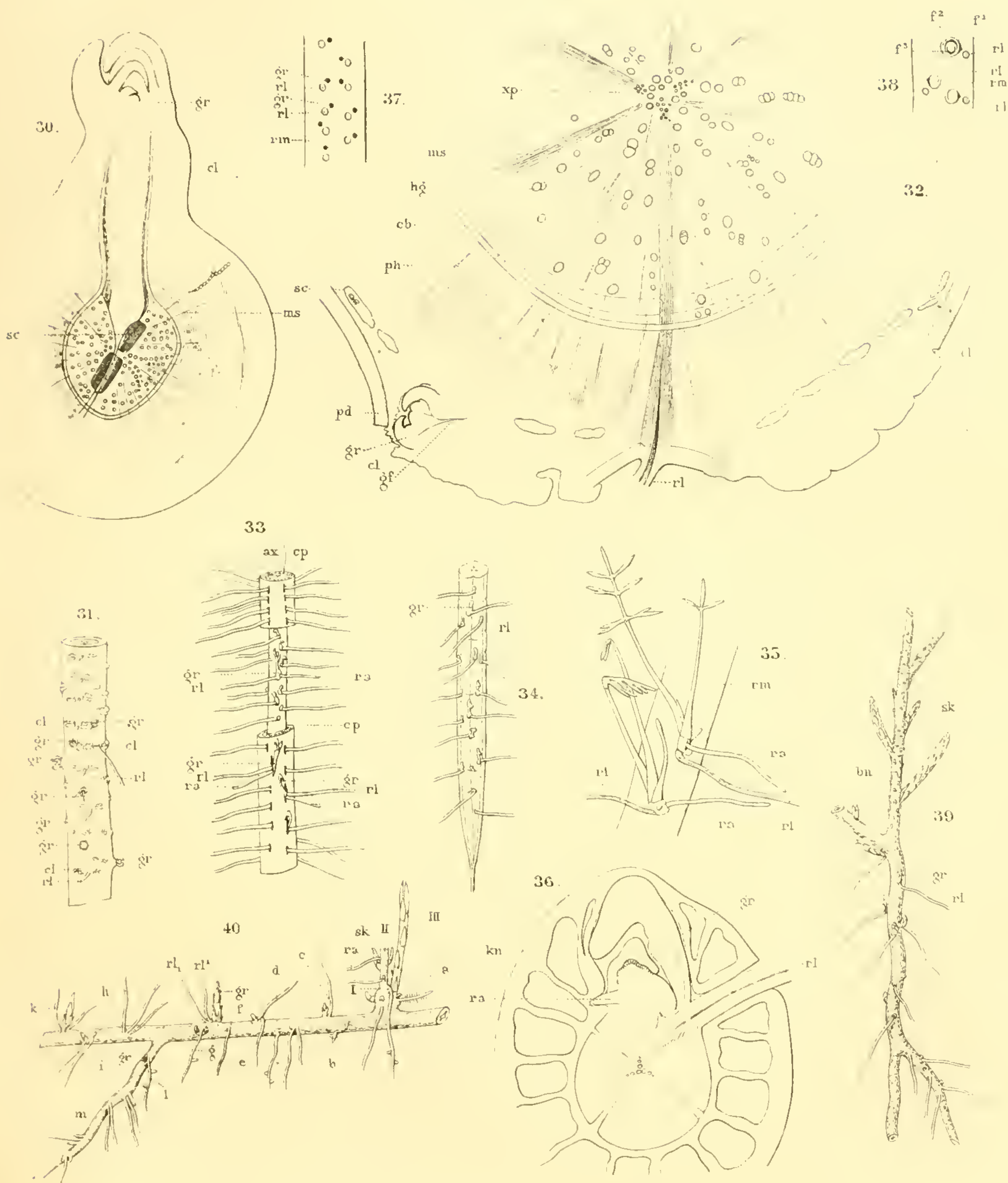
Fig. 84 (18). Eine sechsstrahlige Wurzel mit Seitenwurzel, welche beinahe gänzlich exogen entsteht; cp^1 und cp^2 primäre Rinde von Mutter- und Seitenwurzel *rl*.

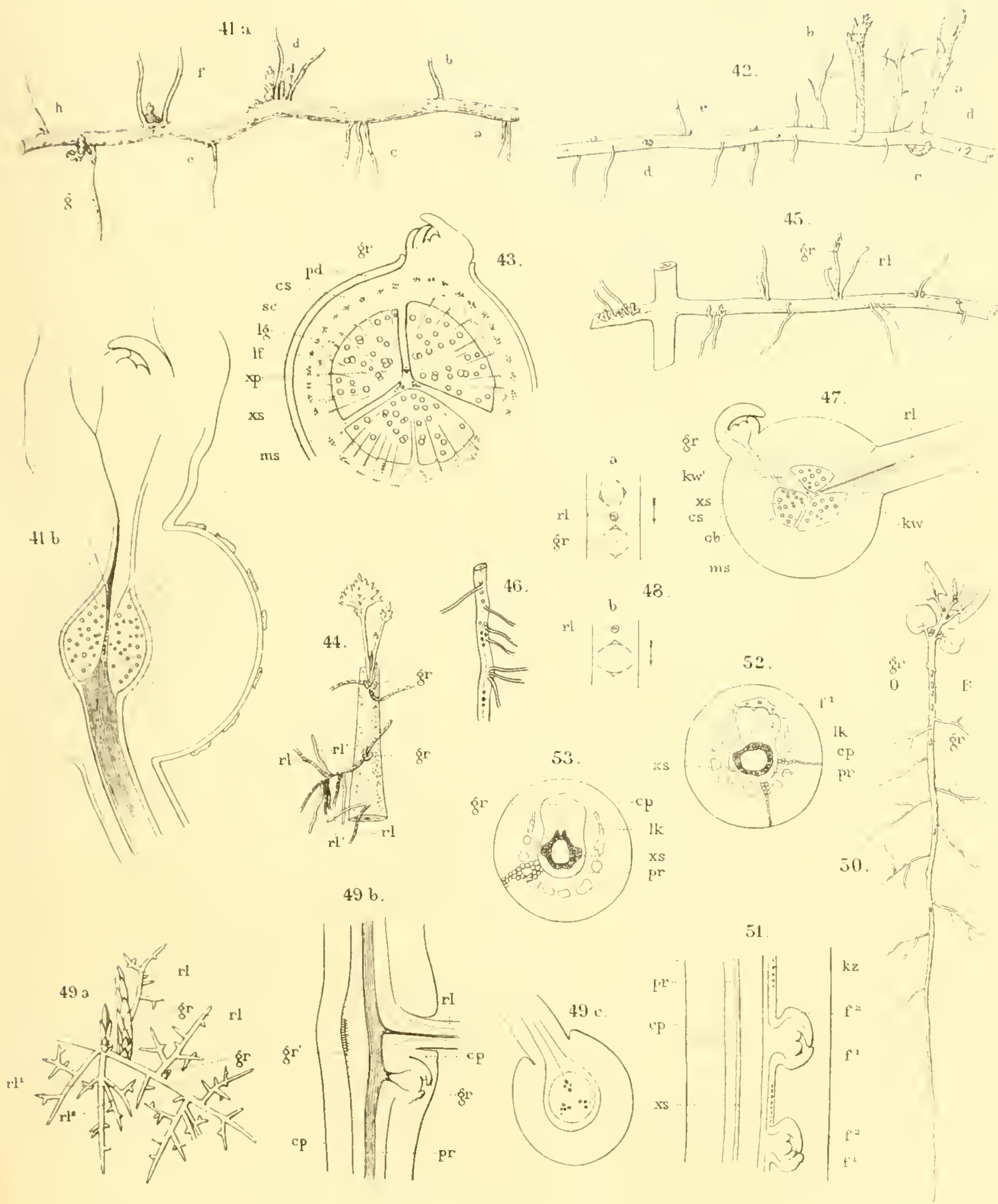
Fig. 85 und 86 (18). Entwicklung der Knospe *gr* aus der Rinde einer sechsstrahligen älteren Wurzel. Eine Beziehung zwischen Stand der Knospe und Stellung der Gefässplatten existirt augenscheinlich nicht.

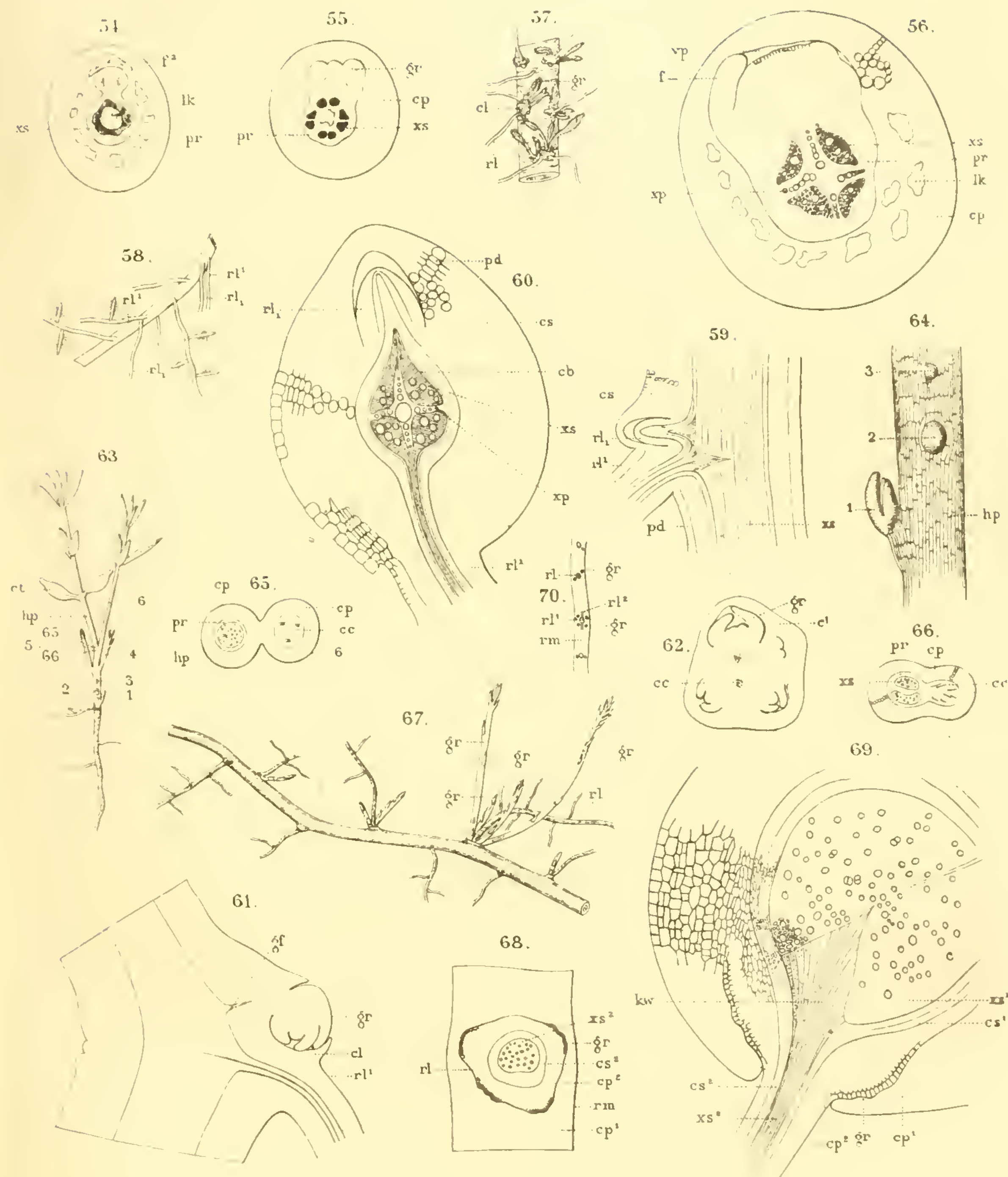
Fig. 86 (200). Die Uebergangsstelle *86* der vorigen Figur einer Knospenanlage in das Gewebe der Mutterwurzel; *ep* die schwarze Epidermis der letzteren, *gr* das Knospenmeristem.

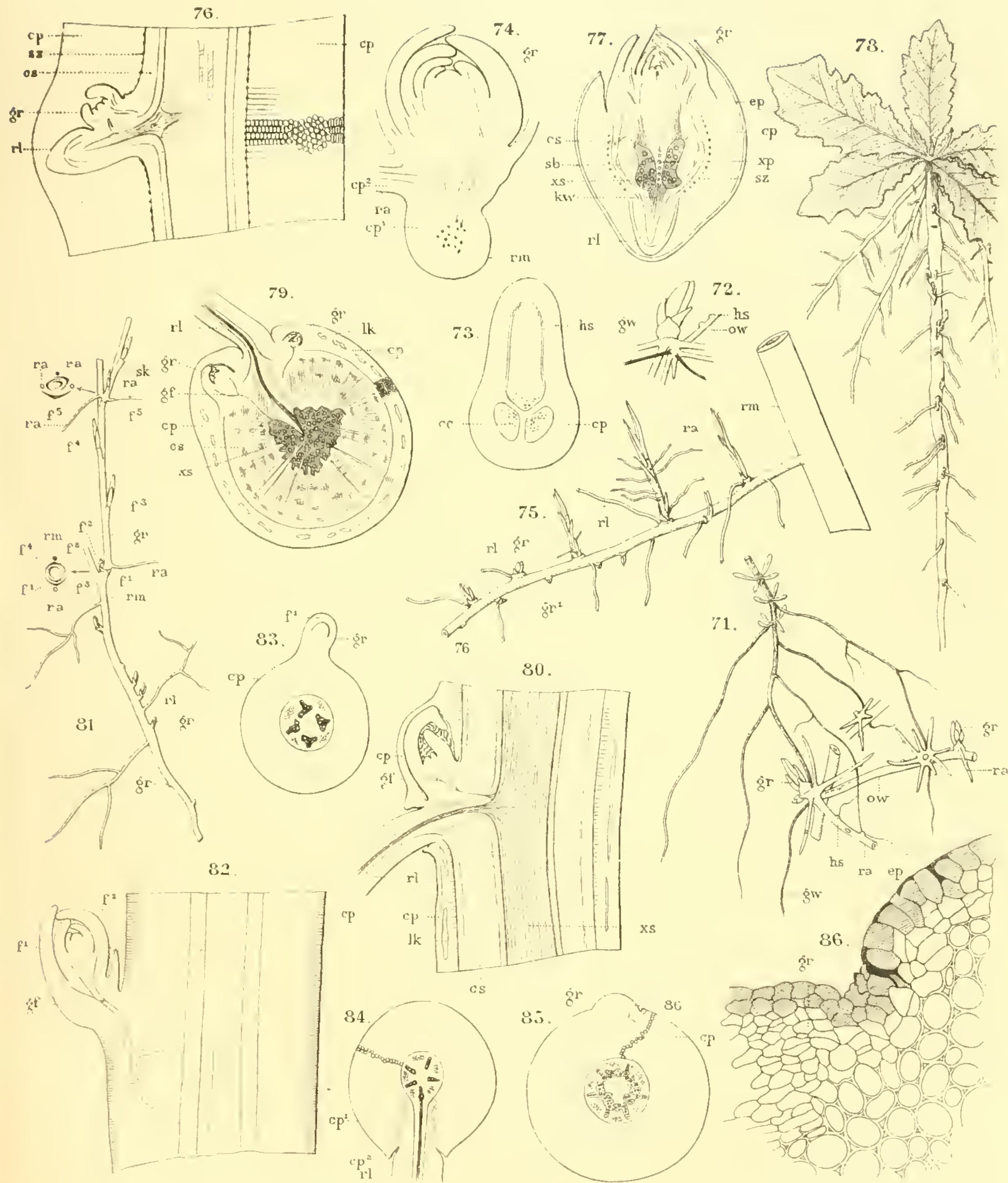

1.
bs
wt
bw
bw'
wt
2.
rm
rl
rl
3.
gr
cl
gr
rl'
rl
4.
gr
cl
gr
rl
ax
xp
cb
cs
5.
rl
cl
gr
gr
6.
rl1
rl2
cp
cs
7.
rl
vb
ra
gr
rl
vb
8.
rm
vb
f2
rl2
rl1
9.
cs
rl1
vb
cc
rl1
wm
10.
a
b
c
d
e
11.
gr
gr
xs
cb
cs
pd
12.
rl1
rl2
f
a
b
a
e
c
d
bh




30.
37.
38
32.
33
31.
34.
35.
39
40
36.


41 a
42.
43.
45.
47.
48.
41 b
44.
46.
52.
53.
50.
49 b.
51.
49 a
49 c.




76.
74.
77.
78.
79.
73.
72.
75.
71.
81
83.
80.
82.
84.
85.
86.

Ueber das Cecidium von Nematus Capreae auf Salix amygdalina.

Botanische Zeitung, Leipzig, 46. Jahrgang, 1888, S. 1—11 und S. 17—27.

Die Gallen oder Cecidien der Weidenblätter, welche durch Tenthredineen erzeugt werden, können nach ihrer Form in zwei Gruppen vertheilt werden, je nachdem dieselben die Gestalt einer, vermittelst eines kurzen Stielchens mit dem Blatte verbundenen Kugel besitzen, oder einer auf der Ober- und der Unterseite der Blattspreite gleichmässig hervorragenden Verdickung. Die hauptsächlichsten niederländischen Arten, welche zur ersten Gruppe gehören, sind das glatte, sphärische Cecidium von *Nematus viminalis* auf *Salix purpurea*, und das behaarte unregelmässig-längliche oder birnförmige Cecidium verursacht durch *Nematus pedunculi* auf *Salix aurita*.

Die am meisten bekannte Form der zweiten Gruppe ist das Cecidium von *Nematus Capreae* (syn. *Nematus Vallisnerii*), welches sich vorzugsweise auf *Salix amygdalina*, jedoch auch sehr oft und reichlich auf *Salix alba* und *S. fragilis* entwickelt [1]). Seltener kommt es vor auf *Salix babylonica* und *S. pentandra*.

Das schönste und grösste Cecidium dieser Gruppe ist der dunkelviolette Auswuchs verursacht auf den Blättern von *Salix purpurea* durch *Nematus vesicator;* ich fand es oft in den Weinbergen des Elsass. Ich glaube nicht, dass diese Art in Niederland vorkommt. Dagegen fand ich noch drei andere, weniger augenfällige Formen innerhalb unserer Grenzen.

Ich habe mit Sorgfalt die Entwicklungsweise der Cecidien von *Nematus Capreae* und *N. viminalis* studirt; diejenige der übrigen Arten muss damit in allen wesentlichen Punkten übereinstimmen. Bei der nachfolgenden Beschreibung werde ich besonders *N. Capreae* berücksichtigen. Diese Art ist so allgemein, dass Jeder meine Beobachtungen wird wiederholen können.

Das Capreae cecidium.

Nematus Capreae kommt jeden Sommer in zwei Generationen vor. Das erste Mal sieht man die kleine Sägewespe Ende Mai aus dem Puppengehäuse herausschlüpfen. Sie sucht dann sofort die sehr jungen, noch durchmittengefaltenen und dicht zusammenliegenden Blättchen der Endknospen der Weidenzweige (Fig. 1*a*), welche zu dieser Zeit sehr schnell wachsen, sie stellt sich, den Kopf nach unten,

[1]) In Bezug auf dieses Cecidium muss ich jedoch bemerken, dass bei meinen Versuchen die aus den Gallen von *Salix alba* hervorgekommenen Individuen immer verweigerten, in die Blättchen von *S. amygdalina* Eier zu legen und umgekehrt; dessen ungeachtet lässt sich zwischen den Insecten der beiden Cecidien kein Unterschied auffinden.

auf die Rückenseite eines kleinen Blättchens (Fig. 2) und bringt darin vermittelst ihrer, aus vier Chitinlamellen (Fig. 3) bestehenden Säge (*sg* Fig. 9) durch eine auf- und abgehende, und in Bezug auf die Lamellen zu einander, schiebende Bewegung, eine spaltenartige Verwundung an in eine Fläche, welche parallel ist mit Ober- und Unterepidermis des Blättchens. Die Form der Verwundung ist diejenige eines Dreieckes (*vw* Fig. 1*a* und *b*), dessen breite Basis sich genau in der Mitte der Dicke des Blattes vorfindet (*vw* Fig. 8) und wovon die feine Oeffnung (*or* Fig. 1*a*, *b* und Fig. 2) die Spitze des Dreieckes einnimmt. Diese Oeffnung liegt immer auf der Seitenkante eines Blattnerven, schliesst sich später vermittelst einer dünnen Korkschicht, und bleibt während des ganzen Lebens auf der Böschung der Galle sichtbar (*or* Fig. 6). Hinten in den breiteren Theil der Verwundung legt das Insect sein Ei ab (*ov* Fig. 1*a* und *b*) und der übrige Theil (*sp* Fig. 1) der Wundspalte wird mit einem Schleimtropfen angefüllt, welcher aus der »Giftblase« (*vs* Fig. 9) herkünftig ist. Schon nach ein- oder zwei Tagen beginnt das abnorme Wachsthum des Blattes sichtbar zu werden; nach zwei oder drei Wochen ist das Cecidium ausgereift und hat seine volle Grössenentwicklung erreicht. Wenn man dasselbe zu dieser Zeit in der Mitte durchschneidet, so findet man darin einen relativ weiten Raum (Fig. 4); hierin liegt, noch vollständig lose und frei, das noch gänzlich geschlossene Ei (*ov*), welches äusserlich keine andere Veränderung als eine mässige Vergrösserung erfahren hat; nichtsdestoweniger findet man im Innern der Eischale (*es* Fig. 5) eine kleine, in allen ihren Theilen vollständig entwickelte Larve (*lv* Fig. 5). Sobald diese Larve, welche nun für's freie Leben ausgereift ist, ihre Eischale verlässt (*lv* Fig. 6), fängt dieselbe sofort an, die dicke, grüne Innenwandung (*cc*) ihrer Wohnung zur Ernährung anzufressen. Zu Ende Juni hat die Larve die Länge eines cm erreicht; zum Zwecke der Lüftung ihres engen Wohnraumes beisst sie dann mit ihren kräftigen Mandibeln ein kleines rundes Loch in die Gallenwandung; einige Tage später verlässt das Thier selbst seine Wohnung durch dieses Loch, fällt zu Boden, spinnt sich einen festen, dunkelbraunen Cocon und verändert darin zu einer Nymphpuppe, woraus man im August die zweite Generation im vollkommenen Zustande herausschlüpfen sieht. Auch diese findet dann noch für ihre Eiablage geeignete junge Weidensprosse, welche sich bekanntlich im Sommer nicht durch Knospenschuppenbildung abschliessen; das Thier führt darauf in jeder Hinsicht dasselbe Leben wie die erste Generation, ihre Gallen erscheinen im Herbste, fallen mit den Blättern zu Boden und die sich darin befindenden Larven kriechen entweder durch das vorher von ihnen gefressene Loch nach aussen, oder spinnen sich innerhalb der Gallen selbst ihren Cocon [1]), und überwintern darin, vergraben in der humösen Erde am Fusse des Weidenstockes.

In der ersten Generation von *Nematus Capreae* fehlen die Männchen vollständig, in der zweiten findet man davon nur sehr vereinzelte Exemplare.

Innerhalb meiner Gazenetze haben meine Sägewespen, sowohl der zweiten wie der ersten Generation sich parthenogenetisch fortgepflanzt, und ich glaube, dass infolge der ausserordentlich günstigen Ernährungsbedingungen während des embryonalen Lebens, die Parthenogenesis in diesem Falle, sowie in so manchen anderen,

[1]) *Nematus viminalis* verlässt auch in zweiter Generation die zu Boden liegenden Gallen ausnahmslos

durch das Gallenleben bedingten Fällen, ohne schädliche Folgen ununterbrochen würde fortdauern können, und dass die Männchen von *Nematus Capreae*, in phyletischer Hinsicht, im Verschwinden begriffen sind. Auf diesen sehr wichtigen Umstand kann ich jedoch an dieser Stelle nicht weiter eingehen.

Bei *Nematus viminalis* fand ich sehr viele Männchen, aber auch hier überwiegen die Weibchen unzweifelhaft nach der Zahl. In meinen Gazenetzen gelangen auch bei dieser Art meine Versuche über die Parthenogenesis; ich untersuchte hier jedoch nur die zweite Generation.

In den ausgewachsenen Blättern von *Salix amygdalina* (Fig. 5) findet man, ausserhalb der Gefässbündel, 9 Zellenschichten, nämlich: die Oberepidermis, 2 Schichten Pallisadengewebe, welche erst bei der Streckung entstehen, in jungen Blättern (Fig. 7) dagegen noch aus einer einzigen Zellschicht bestehen, ferner 4 chlorophyllreiche Merenchymschichten, eine farblose oder nur wenig Chlorophyll führende Zellschicht mit sehr weiten Intercellularräumen, endlich die Unterepidermis. In den etwas dickeren Nerven findet man doppelte Gefässbündel, getrennt durch zwei oder drei kleinzellige Parenchymschichten; die Holztheile (*hb* Fig. 5 u. 8) sind einander zugewendet, so dass die Gefässbündel der Nervenoberseite eine entgegengesetzte Stellung besitzen zu dem, was man bei anderen Blättern gewöhnlich bemerkt. Uebrigens sind die Gefässbündel in den feineren Nerven in der gewöhnlichen Weise placirt.

Das Insect legt sein Ei (*ov* Fig. 8) in die Mitte der dann noch sehr jungen und ohne Intercellularräume auseinanderschliessenden Merenchymschichten, wovon oben gesprochen wurde. Die Hypertrophie, welche dadurch verursacht wird, wird zuerst sichtbar in der Nachbarschaft der Wundöffnung (*or* Fig. 1*b*); von daher streckt sie sich allmählich in die Richtung des Eies aus, welches zu Boden der Wunde liegt, und es ist eben nächst dem Eie, dass das abnorme Wachsthum am längsten fortdauert, sodass das Hinterende des, übrigens ellipsoidischen Cecidiums, ein wenig dicker wird, wie das Vorderende. Alle lebenden Gewebe ohne Ausnahme betheiligen sich am abnormen Wachsthume. Die vier Merenchymschichten sowie die Zellen der Gefässbündel bilden im Innern des Cecidiums eine kleinzellige dunkelgrüngefärbte Gewebemasse (*cc* Fig. 4, 5, 6 u. 10), wovon die Larve sich ernährt, und welche scharf contrastirt zu der fablosen oder rothen, aus den übrigen Zellschichten entstandenen Gallenrinde (*ec*). Die Zellen dieser Rinde sind arm an Inhalt [1]), allein sie gewähren durch ihre etwas verdickten Wände der Larve einigen Schutz gegen die Stachel der Ichneumoniden. Das dunkelgrüne Innengewebe (*cc*) mit den dazu gehörigen Gefässbündeln scheint als homolog mit dem Centralcylinder von Stengel und Wurzel aufgefasst werden zu müssen. In dem Cecidium ist der Unterschied zwischen diesem Gewebesystem und den übrigen Theilen viel deutlicher, wie die Differenz zwischen den correspondirenden Geweben des nicht modificirten Blattes, so dass die Summe der durch die Gallbildung verursachten Veränderungen, in anatomischer Hinsicht, als sehr wichtig zu betrachten ist.

Wenn man den Genitalapparat (Fig. 9) von *Nematus Capreae* aus dem Abdomen isolirt, so findet man darin die für die übrigen Abtheilungen der Hymenoptera gewohnte Structur zurück. Drei Theile sind darin besonders augenfällig, erstens die

[1]) Man findet darin viele kleine zusammengestellte Stärkekörnchen.

Ovarien (*ov*), welche den gewöhnlichen Bau besitzen, ferner die »Giftdrüsen« (*gv*) und endlich die »Giftblase« (*vs*). Die Giftdrüsen bestehen aus einem Systeme von Röhren oder besser von Fäden, welche relativ dick, zierlich verzweigt und ziemlich complicirt gebaut sind, dieselben stimmen in letzterer Hinsicht vollständig mit den wahren Giftdrüsen der Wespen, Hummeln und Bienen überein. Eine merkwürdige Eigenschaft dieses Organes besteht darin, dass sich in der Achse jedes Fadens eine sehr feine Röhre vorfindet, resistent genug, um einen immer offenen, selbst bei Biegung sich nicht schliessenden Kanal für die Leitung des Secretes zu der Blase darzustellen. In diese Röhren münden sehr viele kleine Seitenröhrchen, deren Anzahl mit derjenigen der secernirenden Zellen der Drüse identisch sein dürfte.

Die kuglige Blase (*vs*), von ½ mm Mittellinie, enthält hauptsächlich eine zähe, durchsichtige aus einer Proteinsubstanz bestehende Flüssigkeit, welche sich in verschiedenen Hinsichten mit Albumin vergleichen lässt, wovon sie übrigens physiologisch ganz verschieden sein muss. Das Gift der Bienen, Wespen und Hummeln ist ebenfalls ein eiweissartiger Körper [1]), und nach F a y r e r ist das Gift der Cobraschlange homolog mit dem Ptyalin des Speichels.

Die Entstehung des Cecidiums von *Nematus* ist ohne Zweifel abhängig von der mit dem Eie in das junge Blatt hineingeführten Substanz aus der Giftblase.

Dieses folgt zuerst daraus, dass jede durch die Säge des Insectes angebrachte Verwundung, auch wenn darin kein Ei abgelegt wird, die Entstehung eines Cecidiums veranlasst [2]). Zwar bleibt ein soelches Cecidium (Fig. 10), wenn keine Larve sich darin vorfindet, viel kleiner als ein normales, ist jedoch mit dem letzteren in jeder andern Hinsicht vollständig identisch. Die Kleinheit ist davon die Folge, dass das Thier, wenn es kein Ei in die Wunde bringt, immer auch weniger Substanz aus der Giftblase darin ergiesst,und man kann sich leicht davon überzeugen, dass das schliessliche Volumen des erwachsenen Cecidiums sowohl proportional ist mit der Grösse der Verwundung, wie mit der Quantität der dareingebrachten Proteinsubstanz [3]).

Ein zweiter Beweis für die Entstehung des Cecidiums nicht unter dem Einfluss von Ei oder Larve, sondern des eiablegenden Insectes selbst, beruht auf dem folgenden Versuch.

Sobald das *Nematus*ei in das Weidenblatt abgelegt ist, ist es leicht, dasselbe mit einer starken Loupe im Innern der Blattsubstanz zu sehen (Fig. 1*b*) und vermittelst einer feinen Nadel zu durchbohren. Diese Vernichtung des Eies verhindert die Gallbildung nicht; denn, soweit die grobe Verletzung und Abtödtung eines Theiles des zarten Gewebes des Blattes dieses erlauben, wächst die Galle normal aus, obschon dieselbe klein bleibt. Weder das Ei noch die Larve sind desshalb nothwendig für die Gallbildung. Dass deren Gegenwart jedoch einen gewissen Einfluss ausübt auf die

[1]) Das Gift aus der Giftblase von Wespen, welche ich ein Paar Jahre in Alkohol aufbewahrt hatte, war coagulirt, allein es zeigte in Hautwunden meiner Hand, obschon abgeschwächt, die gewöhnliche Wirkung.

[2]) Die Verwundung an sich kann nicht die Ursache sein des abnormen Gewebewachsthums, denn andere Tenthredineen machen in die jungen Weidenblätter ganz ähnliche Wunden, allein ohne jede besondere Folge.

[3]) Künstliche Injectionen mit dem Blaseninhalte von *Nematus viminalis* in die jungen Blätter von *Salix purpurea* scheiterten entweder vollständig, oder gaben doch nur ein zweifelhaftes Resultat, — meine Hand vermochte nicht zu wetteifern mit der Säge des Thieres.

Regelmässigkeit der Entwicklung des Cecidiums, z. B. auf die Entstehung des Innenraumes, kann uns nicht wundernehmen, wenn wir überlegen, wie ausserordentlich verschieden die Ernährungsbedingungen in dem Gallengewebe sein müssen, wenn sich das, an sich gewiss einer specifischen Eiweissnahrung bedürftige Ei darin wohl oder nicht fortentwickelt.

Reversion der Charactere bei Cecidien.

Schon seit langer Zeit habe ich die Ueberzeugung gehegt, dass es sehr wichtig sein würde, die folgenden Fragen mit Sicherheit zu beantworten: Sind die Subsanzen, welche die Gallbildung veranlassen, von einer solchen Natur, dass sie eine bleibende Veränderung des pflanzlichen Protoplasma's veranlassen, sei es dadurch, dass sie das Letztere chemisch umändern, oder dadurch, dass dieselben an sich wachthumsfähig sind, sich mit ihren specifischen Eigenschaften reproduciren, — in welchem letzteren Falle sie als lebende Materie würden aufgefasst werden müssen? — Oder sind diese Stoffe an sich nicht reproductionsfähig und modificiren dieselben das pflanzliche Protoplasma nicht bleibend in chemischem Sinne? Wenn diese zweite Möglichkeit sich als die wirklich zutreffende ergiebt, so müssen die cecidiogenen Stoffe in einer, für jede Galle fest bestimmten, bald durch das abnorme Wachsthum verzehrten Quantität, in die Erscheinung treten, und das Protoplasma der Nährpflanze, — an sich nicht verändert, — muss dann nach deren Erschöpfung zu dem ursprünglichen Zustande zurückkehren.

Anfangs hoffte ich die Beantwortung dieser Fragen zu finden durch Kreuzung verschiedener Cynipidenarten, und durch die Cultur der Cecidien durch die bastardbefruchteten Eier, sowie durch die Eier der Bastarde erzeugt [1]). Zu diesem Zwecke führte ich während mehrerer auf einander folgender Jahre eine Reihe von Bastardirungsversuchen aus, mit den einzigen Arten, welche ich in einer dafür ausreichenden Anzahl züchten konnte, nämlich mit *Rhodites Rosae* und *R. Mayri*. Allein obschon die dabei erhaltenen Cecidien sehr merkwürdig waren, konnten aus deren Eigenschaften doch niemals feste Schlüsse gezogen werden, weil immer Zweifel in Bezug auf deren wahren Ursprung übrig blieb. Diese Unsicherheit war der Hauptsache nach die Folge der bei den genannten Thieren zwar unregelmässig, jedoch vielfach vorkommenden Parthenogenesis [2]).

Es ist mir jedoch auf einem ganz anderen Wege gelungen, die Hauptfrage zu beantworten.

---

[1]) In meiner Untersuchung über die Cynipidengallen habe ich gezeigt, dass in diesem Falle, — ganz im Gegensatze zu dem Verhalten der *Nematus*cecidien, — eben die in der Entwicklung begriffenen Embryonen die Gallbildung veranlassen.

[2]) Die befruchteten Weibchen dieser beiden Species können, eben wie die Bienenkönigin, befruchtete und nicht befruchtete Eier legen, so dass schon deshalb in ihren vielkammerigen Mischlingsgallen sehr heterogene Combinationen von Eigenschaften entstehen. Ferner sind die hybriden Weibchen der ersten Generation sowohl parthenogenetisch, wie sexuell fruchtbar, und schliesslich besitzen die Eigenschaften der Gallen der Bastarde grosse Neigung sich zu trennen. Man kann sich leicht denken, wie gross die morphologische Complication sein muss, welche durch diese verschiedenen Ursachen entsteht.

Wenn man voraussetzt, dass die Substanz, welche die Gallbildung verursacht, eben wie das Protoplasma der Pflanze, ein lebender Stoff ist, welcher selbst unbegrenzt weiterwachsen kann, oder ein Stoff, welcher dem pflanzlichen Protoplasma eine bleibende Veränderung aufprägt, so müssen, wenn es gelingt, das Wachsthum des ganzen Cecidiums oder eines Theiles davon weiter zu treiben als bei der gewöhnlichen Entwicklung stattfindet, die Eigenschaften der Neubildung identisch bleiben mit denjenigen des Cecidiums. Wenn umgekehrt, die cecidiogene Substanz an sich nicht wachsen, und auch nicht durch Umbildung des pflanzlichen Protoplasma's neues, reproductionsfähiges Protoplasma erzeugen kann, so muss man, im Falle von Ueberentwicklung, die ursprünglichen Charactere der Organe, woraus das Cecidium entstanden ist, zurückkehren sehen.

Der Versuch hat gezeigt, dass es dieser letztere Umstand ist, welcher wirklich eintritt. Ein durch einen beblätterten Stengel erzeugtes Cecidium ändert sich, im Falle von Wachsthum über die normale Grenze, in einen vollständig normalen, beblätterten Zweig; — eine durch Cecidiogenesis veränderte Wurzel kehrt unter diesem Verhältnisse zur normalen Wurzel zurück; — ein durch Cecidiogenesis verändertes Blatt wird zu einem normalen Blatte.

Auf die Einwendung, dass die Eigenschaften des Cecidiums in die Neubildung in latenten Zustand übergehen könnten, komme ich unten noch kurz zurück. Zuerst einige Beispiele zur Erläuterung des Hauptsatzes.

Die schönen als »Weidenrosen« bekannten Cecidien, welche durch *Cecidiomyia rosaria* an *Salix alba* erzeugt werden, sind sehr geeignet den ersten Theil unseres Ausspruches zu beweisen.

Wenn man die junge Larve, welche in der Mitte der Blattrosette, auf dem Vegetationspunkte dieses Cecidiums lebt, sehr frühzeitig vermittelst eines Nadelstiches tödtet, und ferner die Seitenzweige, welche so kräftig unterhalb der Blattrosette hervorsprossen, entfernt, so gelingt es, einzelne der ruhenden Knospen, welche in den Achseln der Blätter des Cecidiums vorkommen, zum Treiben zu bringen.

Diese Knospen erzeugen dann einen beblätterten Zweig, wovon die unteren Blätter noch mit den tief veränderten Blättern der Weidenrose identisch sind, während die weiteren Blätter mehr und mehr normal werden, je näher sie sich bei der Spitze des Zweiges befinden, und schliesslich mit den gewöhnlichen Blättern vollständig identisch werden. Ja, einzelne, aus der Basis des Cecidiums sprossende Aestchen tragen schon an ihrer Ansatzstelle nur normale Blätter.

Die von der Larve secernirte Substanz bleibt deshalb in diesem Falle eine begrenzte, nicht für Weiterwachsthum geeignete Quantität, welche auch nicht dem pflanzlichen Protoplasma eine bleibende Modification aufgeprägt hat.

Ich habe diese nämliche Beobachtung gemacht in Bezug auf die kleinen durch *Phytoptus Betuli* erzeugten Hexenbesen der Birken, sowie an die durch *Phytoptus Coryli* in Cecidien veränderten Knospen von *Corylus Avellana*.

Den Beweis, dass die durch Gallbildung veränderten Wurzeln im Falle von Ueberentwicklung zu den gewöhnlichen Eigenschaften zurückkehren, finden wir in den interessanten Cecidien von *Cecidomyia Pooe* an *Poa nemoralis*. Der Hauptteil dieser Galle ist ein Bündel sonderbar modificirter Wurzeln, welche auf einer gewissen Höhe oberhalb des Bodens aus dem Stengel hervorbrechen. Wenn die Halme, welche ein solches Cecidium tragen, als Stecklinge behandelt, in einen humusreichen Boden an einem schattigen Orte eingegraben werden, so sieht man bei einigen Exemplaren, aus den Spitzen oder unmittelbar unterhalb der Spitzen einzelner in Cecidienwurzeln umgewandelter Wurzeln, vollständig normale *Poa*wurzeln entstehen [1]). Der Uebergang ist plötzlich; die cecidiogene Substanz war also vollständig erschöpft, als die neue Wachsthumsphase begann.

Was in dritter Linie die von Blättern erzeugten Cecidien anbelangt, so können auch sie nicht über das normale Maass wachsen, ohne ihre specifische Eigenschaft als Galle einzubüssen. Ich habe dieses beobachtet in Bezug auf die Anhangsgebilde, womit die Bedeguare, das heisst die vielkammerigen, von *Rhodites Rosae* auf *Rosa rubiginosa* und *R. canina* erzeugten Cecidien bewachsen sind. Da diese Galle durch Metamorphose von Blättern entsteht, ist es zwar schwierig, deren Wachsthum durch ein geeignetes Schnittverfahren des ganzen Strauches zu activiren, allein dadurch, dass man die Wurzellohden, sowie die Seitenzweige, frühzeitig entfernt, kann man doch deren Ernährung begünstigen. Gelingt dieses zu einer Zeit, wenn man noch die Eier auf der Oberfläche des jungen Cecidiums blinken sieht, so wachsen einzelne der Filamente entweder zu einem einfachen oder zu einem kleinen, gefiederten Blättchen aus. Wenn das auf diese Weise entstandene Blatt e i n f a c h ist, so besteht es aus einer kleinen Spreite, welche an der Spitze des an der Basis unverändert gebliebenen Fadens befestigt ist. Nicht allein in morphologischer, sondern auch in anatomischer Hinsicht unterscheidet diese kleine Blattspreite sich durchaus nicht von der Spreite der normalen Blätter, und nichtsdestoweniger sind ihre Zellen das Product von Mutterzellen, welche ein Theil der so merkwürdigen Gallenfilamente gewesen sind. Die kleinen g e f i e d e r t e n Cecidiophyllen unterscheiden sich von den gewöhnlichen Blättern, erstens, durch ihre geringe Dimension, welche ein oder zwei cm nicht überschreitet, weiter, durch die sehr geringe Länge der Rachis zwischen den Blättchen, allein auch in diesem Falle ist die anatomische Structur der Blattspreite vollständig normal.

Der Erfolg bleibt also in den verschiedensten Fällen der nämliche: bei Ueberentwicklung gehen die Charactere der Cecidien verloren, die des Mutterorganes kehren zurück.

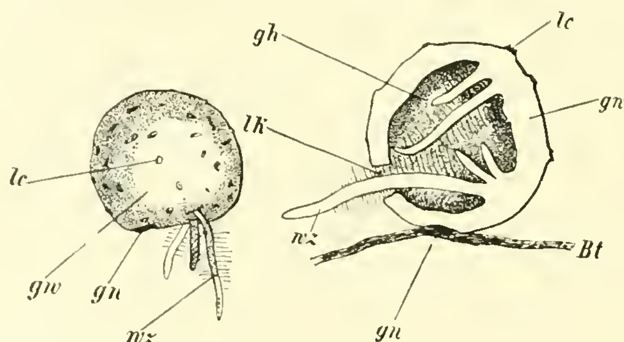
H e t e r o l o g e N e u b i l d u n g a u s C e c i d i e n.

Einem anderen, mit dem nun abgehandelten innerlich verwandten Resultate, kann in folgenden Worten Ausdruck gegeben werden: Wenn die Gewebe eines Ce-

[1]) Gewöhnlich kommt in solchen Fällen auch die Knospe, welche sich in der N a c h b a r s c h a f t der Graswurzeln befindet, zur Entfaltung, wodurch man dann vollständige Pflanzen erhalten kann. Ein auf diese Weise entstandener starker Stock von *Poa nemoralis* hat in meinem Garten zu Delft geblüht. Ich habe daran nichts besonderes bemerken können, die Pflanze war autofertil und hat im Sommer 1886 eine grosse Anzahl reifer Samen erzeugt.

cidiums die Eigenschaft besitzen, ein neues Organ erzeugen zu können, welches nicht homolog ist mit dem Mutterorgane des Cecidiums, so unterscheidet sich diese Neubildung auf keine wahrnehmbare Weise von den damit homologen normalen Theilen der Pflanze, welche das Cecidium trägt. Im nachfolgenden Falle gelang es mir, diese Thatsache zur Evidenz zu bringen.

Die *Nematus*-Cecidien besitzen eine ausserordentliche Vitalität. Diejenigen von *Nematus Capreae* werden noch lebendig angetroffen, lange Zeit nachdem das Tragblatt vollständig in Fäulniss übergegangen ist. Es sind aber besonders die schönen Gallen von *Nematus viminalis* auf *Salix purpurea,* welche in dieser Hinsicht wirklich verwunderliche Eigenschaften besitzen. Obschon bereits im Anfange des Herbstes von ihren Bewohnern verlassen und im feuchten Humus vergraben überwinternd, bleiben doch sehr viele davon vollständig turgescent und können selbst im nächstfolgenden Sommer ein neues Leben antreten. Dieses äussert sich zunächst durch eine kleine Grössenzunahme, durch kräftige Lenticellenbildung (Holzschn. *lc* Fig. 1) und



Wurzelbildung aus der Galle von *Nematus viminalis* auf *Salix purpurea.*

Fig. 1 (1½) Ansicht einer bewurzelten Galle. Fig. 2 (2) Längsschnitt einer anderen Galle. *gw* Gallenwandung mit Lenticellen *lc.* *gn* Gallennarbe. *lk* Schlupfloch von der Larve gefressen. *wz* Wurzeln mit Wurzelhaaren. *gh* Gallenhöhlung. *Bt* Todtes Blatt.

durch die Entstehung neuen Chlorophylls. Den verflossenen Winter (1886—87) habe ich eine gewisse Zahl dieser Gallen in meinem Laboratorium zu Delft aufbewahrt: diejenigen, welche ich in Kölbchen mit Zuckerwasser gebracht hatte, sind zwar bis im Juni 1887 lebendig geblieben, dieselben haben jedoch nichts Neues erzeugt und sind in ihrem Leben beeinträchtigt durch Schimmelbildungen, welche ich nicht zu eliminiren gewusst habe. Bei anderen Individuen dagegen, unter einer reichlichen Aussaat der Galle auf feuchten Sand, haben sich, entweder in der Mitte der Dicke der Wand (Holzschnitt Fig. 1) oder in der inneren Höhlung (Holzschn. Fig. 2) mehrere schöne, bis zu 2 cm lange Wurzeln gebildet. Das *Viminalis*cecidium an sich entsteht auf dem Weidenblatte aus dem Gewebe des Mittelnerven, worin das Insect immer seine Eier legt. Die cecidiogenen Wurzeln bilden sich vorzugsweise in der Nachbarschaft des Gallennabels (*gn* Holzschn. Fig. 1), d. h. also zunächst dem Mittelnerven des Blattes; dieselben können jedoch aus allen Punkten der Gallenwandung, wo sich Gefässbundelchen vorfinden, austreiben (Holzschn. Fig. 2), und dieser letztere Umstand scheint mir besonders merkwürdig. Je nach ihrem Entstehungsorte kommen die Wurzeln durch das von der Larve gefressene Schlupfloch (*lk* Holzschn. Fig. 2)

nach aussen, oder brechen als wahre endogene Producte auf der Gallenwandung selbst hervor (*wz* Holzschn. Fig. 1).

Ich habe diese Wurzeln dem mikroskopischen Studium unterworfen, und ich überzeugte mich, dass dieselben vollständig identisch sind mit den gewöhnlichen, dünnen Neben- oder Seitenwurzeln primärer Structur, welche aus den Stengeln oder den Wurzeln von *Salix purpurea* entstehen [1]).

Wie oben schon hervorgehoben, könnte man gegen meine Betrachtungen einwenden, dass die Eigenschaften der Cecidien in die daraus entstandenen Neubildungen in latentem Zustande gegenwärtig sein dürften, denn auch gewisse Monstrositäten gehen, in ihre normalen Sprossungen in latenten Zustand über. Ich erinnere z. B. an die normalen Inflorescenzzweige bei *Brassica oleracea* var. *Botrytis* oder von atavirenden Individuen bei *Celosia cristata*, sowie an die Durchwachsungen sämmtlicher, accidenteller Fasciationen etc. Erst bei Aussaatversuchen bemerkt man, dass in den scheinbar völlig normalen Sprossen, in solchen Fällen ein gewisses Maass von Erblichkeit dieser mehr oder weniger fluctuirenden Variationen gegenwärtig ist. Aussaatversuche mit samentragenden Pflanzen aus den Gewebezellen der Cecidien erzogen, sind auf Grund der vorhergehenden Untersuchung möglich, z. B. aus den Weidenröschen, und wenn die Bildung von Wurzelknospen gelingt, aus den cecidiogenen Wurzeln der *Viminalis*galle etc. Ich betrachte es jedoch aus naheliegenden Gründen als so ausserordentlich unwahrscheinlich, dass solche Individuen, ohne Eingriff des Gallenthieres, also autonom, aus ihren Geweben Cecidien erzeugen würden, denjenigen ähnlich, aus welchen sie (d. h. die samentragenden Pflanzen) entstanden sind, dass besondere Versuche in dieser Beziehung mir zwecklos erscheinen.

Ich glaube desshalb, dass die obigen Ausführungen zureichend beweisen, dass die cecidiogenen Substanzen keine lebenden, sich für spontane Vermehrung eignenden Materien sein können, und dass dieselben auch nicht eine dauernde Veränderung in dem pflanzlichen, sich an der Gallbildung betheiligenden Protoplasma hervorrufen. Desshalb vermag der Process der Cecidienbildung im Allgemeinen kein Licht auf das Problem der Variabilität zu werfen, denn letzterer grosse physiologische Vorgang besteht, essentiell, eben in der Erzeugung neuer, lebender, sich für ein unbegrenztes Wachsthum eignender Materie [2]); und die Annahme der Unmöglichbkeit, selbst der

[1]) Es ist sehr leicht, diese, wie mir scheint nicht unwichtige Beobachtung zu wiederholen. Bisher scheint kein einziger Autor die Wurzelbildung, selbst aus den Weidenblättern überhaupt, erwähnt zu haben.

[1]) Lebende Materie entsteht bei den vier folgenden verschiedenen Processen: die Urzeugung, die Variation (mit Einbegriff der Entstehung der Knospenvariationen), die Entwicklung und das Wachsthum, und die Cecidienbildung. In theoretischer Hinsicht unterscheidet sich die Variation nur dadurch von der Urzeugung, dass bei ersterer schon lebende Materie activ ist, bei letzterer nicht, bei beiden entsteht vollständig neue Materie. Bei der Entwicklung und dem Wachsthum entsteht nichts Neues, sondern es findet nur Vermehrung statt von dem, was schon existirt, und dieses gilt ebenfalls für die Cecidiogenesis. Die Monstrositäten sind meistentheils echte Variationen, nur einzelne davon sind die Folgen von Verletzungen oder anderen äusseren Ursachen, welche auf die embryonalen Gewebe einwirkten. Die ersteren dieser Monstrositäten besitzen latente oder active erbliche Permanenz; die letzteren sind aus ihrer Natur vorübergehend, und lassen sich bisweilen daran erkennen, dass das totale Volumen ihrer lebenden Gewebe geringer ist als dasjenige der correspondirenden normalen Organe, was auf eine Vernichtung embryonaler Substanz hindeutet.

latenten, erblichen Uebertragung der Cecidien von einer Pflanze auf ihre Sämlinge erscheint unabweisbar.

Enzymatische Natur der cecidiogenen Stoffe.

Nachdem wir gesehen haben, dass die die Gallbildung hervorrufenden Stoffe nicht als lebende Substanzen aufgefasst werden können, erhebt sich die weitere Frage, ob dieselben als gewöhnliche Eiweisskörper betrachtet werden müssen, welche die Rolle spielen einer sehr substantiellen Nahrung, oder wohl diejenige von enzymatischen Körpern, welche einen Effect verursachen, der quantitativ durchaus nicht proportional ist mit der wirksamen Menge. Diese Frage ist viel leichter zu beantworten wie die vorhergehende. Kehren wir zu diesem Zwecke zurück zu *Nematus Capreae* und *Salix amygdalina*.

Schon ein oberflächlicher Vergleich der Grösse des Insectes mit dem Gewichte der nahezu hundert Cecidien, welche es erzeugen kann, und worunter die Weidenzweige biegen, überzeugt uns, dass hier Wirkungen einer ganz besonderen Natur im Spiele sein müssen. Wenn man versucht zu berechnen, wieviel Eiweisssubstanz in jede Wunde hineingebracht wird, was leicht geschehen kann, dadurch, dass man den Inhalt der Giftblase, die Zahl der Eier und die Grösse von diesen bestimmt, so findet man ein Quantum von ungefähr 0,06 mm^3; hiervon gehört mehr wie die Hälfte dem Ei an und ist deshalb, wie wir gesehen haben, inactiv. Die Vergleichung dieser Grösse mit dem Volumen des lebenden Protoplasma's der Galle, welche nach Schätzung sicher 10 mm^3 übersteigt, zeigt, dass wir es hier mit zwei Grössen verschiedener Ordnung zu thun haben. In Verbindung mit der oben gegebenen Beschreibung dürfte es also erwiesen sein, dass die specifische durch *Nematus Capreae* secernirte Substanz, — und ich sehe keinen einzigen Grund, diese Schlussfolgerung nicht auch auf alle anderen Cecidien auszudehnen, — ein Proteinkörper ist, welcher nicht nach Art des gewöhnlichen Eiweisses, welches nur ein äquivalentes Quantum Protoplasma erzeugen kann, wirkt, sondern wie ein enzymatischer Körper, dessen Effect, in Zahlen ausgedrückt, von einer anderen Ordnung ist, wie die Grösse der wirksamen Masse. Hier haben wir es also zu thun mit einer stofflichen Reizursache.

Es ist übrigens deutlich, dass die Enzyme, nach dem was man gegenwärtig davon weiss, in anderen wichtigen Eigenschaften sich nicht mit den cecidiogenen Proteinstoffen vergleichen lassen; die ausschliesslich physiologische Funktion der letzteren lässt es erwünscht vorkommen, dieselben mit dem besonderen Namen von Wuchsenzymen zu bezeichnen.

Wir haben oben gesehen, dass die Grösse, welche die Cecidien von *Nematus Capreae* schliesslich erreichen, abhängig ist von der Quantität der activen Materie, welche das Insect in die Wunde ergiesst. Obschon bei den gewöhnlichen Enzymen zwar etwas Aehnliches stattzufinden scheint, denn die am besten bekannten, nämlich die Diastase und das Pepsin, vermögen nur begrenzte Quantitäten Stärke und Eiweiss zu transformieren, so scheint es mir doch, dass die Wirkung der Wuchsenzyme auf eine andere Weise erklärt werden muss. So würde man annehmen können, dass die cecidiogene Substanz einen gewissen Bestandtheil des Protoplasma's zu einem excessiven Wachsthume zwingt, indem es dafür als gewöhnliche Nährsubstanz fungirt, und dass infolgedessen, die übrigen Bestandtheile des Protoplasma's ebenfalls zu einem

viel üppigeren Wachsthume, wie das gewöhnliche, gezwungen werden, wobei sie jedoch die dafür nothwendige Nährsubstanz aus dem Eiweisse der Mutterpflanze erhalten.

Transmission der Charactere bei den Cecidien.

Alle vorhergehenden Beobachtungen zeigen deutlich, dass die Gesammtheit der Eigenschaften der Nährpflanze begründet ist in dem Protoplasma der Cecidien. Wir wollen nun untersuchen, ob der Grad der Permanenz, oder die erbliche Kraft der pflanzlichen Charactere bei dieser eigenthümlichen Form der Transmission, — d. h. bei dem Uebergange in die Cecidien, — entweder gut oder nicht zu Tage tritt.

Zu einer bestimmten Ansicht in dieser Angelegenheit bin ich schon vor längerer Zeit gekommen durch eine sorgfältige Beobachtung der Cecidien, welche in den Baumschulen angetroffen werden auf jenen merkwürdigen, äusserst instabilen Varietäten, welche durch die französischen Gärtner »accidents«, durch Darwin »bud variations«, d. h. »Knospenvariationen«, genannt werden. Es sind besonders die verschiedenen Varietäten der gewöhnlichen Eiche, welche in den Gärten cultivirt werden und deren Geschichte und Stabilitätsgrad genügend bekannt sind, welche sich für dieses Studium eignen. In dieser Hinsicht habe ich manche Beobachtungen gesammelt, wovon hier einige Beispiele folgen.

Wenn die Cecidien von *Cynips Kollari*, *C. fecundatrix* [1]) und *C. folii*, auf albicaten Eichen z. B. auf *Quercus pedunculata* var. *variegata* entstehen, so sind dieselben ebenfalls panachirt; diese nämlichen Cecidien sind auf *Quercus pedunculata* var. *atropurpurea* dunkel violett gefärbt.

Die Cecidien von *C. fecundatrix* sind in den Gärten gemein an den Farnblatteichen, *Quercus sessiliflora* var. *asplenifolia*. Wenn an solchen Gallen eine der Schuppen der »Cupula« [2]) die Gestalt eines gewöhnlichen grünen Blattes annimmt, was bei dieser Galle überhaupt nicht selten geschieht, so ist dieses Blatt gefiedert, wie bei der Nährpflanze. Ich machte eine ähnliche Beobachtung in Bezug auf das nämliche Cecidium an einer Lorbeerblatteiche, *Q. pedunculata* var. *laurifolia*, hier hatte nämlich eine metamorphosirte Schuppe die Gestalt des ganzrändigen, ovallanzettlichen Blattes angenommen. Aus diesen Beobachtungen muss man schliessen, dass, wenn das Auge die Galle von *Cynips Kollari* auf *Quercus pedunculata* var. *heterophylla* nicht zu unterscheiden vermag von diesem Cecidium an der wilden Stieleiche, ohne jeden Zweifel die Charactere der genannten ausserordentlich fluctuirenden Eichenvarietät in dem Protoplasma aller Gewebe der Galle gegenwärtig sind. Es scheint mir überflüssig, weitere Beispiele zu geben; nur will ich noch erwähnen, dass ich die sämmtlichen Differenzen, durch welche die Blätter von *Rosa canina*, *R. rubiginosa*, *R. rugosa* [3])

[1]) Synonym *Cynips gemmae*.

[2]) Ich erlaube mir diesen Ausdruck wegen der schlagenden Uebereinstimmung unserer Galle mit einer Eichel in ihrem Näpfchen.

[3]) *Rosa rugosa* ist einheimisch in Japan, wo *Rhodites Rosae* zu fehlen scheint. Erst nach vielen vergeblichen Versuchen gelang mir die Erzeugung von Bedeguaren auf dieser Rose. Es war für mich eine grosse Genugthuung, als ich im Juli 1885 im Garten der landwirthschaftlichen Schule zu Wageningen das elegante Gebilde zuerst erscheinen sah; hier war also eine Vereinigung gelungen thierischer Materie mit pflanzlichem Protoplasma von geographisch weit getrennten Arten, die im Naturzustande wohl niemals

und *R. acicularis* unter sich verschieden sind, wiedergefunden habe in den Anhangsgebilden der Bedeguare von *Rhodites Rosae,* welche ich auf allen diesen Rosenspecies erzeugte. Kurz, alle Eigenschaften der Pflanze, ohne Ausnahme, selbst die untergeordnetsten und variabelsten, werden in den Cecidien der Pflanze wiedergefunden, und das Maass der Permanenz oder die erbliche Kraft ist ohne Bedeutung, wenn es sich handelt um die Transmission irgend eines Characters von einer Pflanze auf ihre Cecidien. Angesichts dieser Thatsache muss man schliessen, dass die Lebenssubstanz eines Cecidiums ausserordentlich nahe verwandt ist mit derjenigen seiner Nährpflanze.

Im Vergleiche mit der durch unsere letzteren Ausführungen zur Sicherheit gestellten Continuität der pflanzlichen Charactere in die Substanz der Cecidien, müssen wir uns betroffen fühlen durch das in dieser Hinsicht grundverschiedene Betragen der dem Cecidium ausschliesslich eigenen Kennzeichen: diese besitzen nicht den geringsten Grad von Stabilität. Obschon dieser letztere Satz aus den oben besprochenen Erscheinungen der Ueberentwicklungen klar erhellt, so scheint es mir, angesichts der Wichtigkeit des Gegenstandes, doch nicht überflüssig, durch Beobachtungen einer gänzlich anderen Kategorie, dafür eine neue Stütze beizubringen. Ich werde so kurz sein wie möglich; die Darstellung einer einzelnen unzweideutigen Thatsache ist zureichend.

Diese Thatsache besteht in der vollständigen Identität der durch die normalen Organe der Pflanze erzeugten Cecidien mit denjenigen, welche durch andere Cecidien hervorgebracht sind: es ist durchaus nicht möglich, die Eigenschaft einer Galle in den Eigenschaften einer dadurch getragenen Tochtergalle wiederzufinden. Man begreift, dass die Coincidenzen, welche zu solchen Cecidien »zweiter Potenz« Veranlassung geben, sehr selten sein müssen; dessen ungeachtet fand ich im Laufe der Jahre einige sehr schöne Beispiele, worunter die folgenden.

Die Cecidien von *Rhodites eglanteriae* sind in den holländischen Dünen gemein auf den Blättern von *Rosa canina, R. rubiginosa* und *R. pimpinellifolia,* sich deutlich modificirend, je nach der Species ihrer Nährpflanze. In den Jahren, worin diese Gallen sehr gemein sind, wird man dieselben nicht vergebens suchen auf den Filamenten des Bedeguars von *Rhodites Rosae*[1]). Ungeachtet dieses ausserordentlichen Standortes lässt die specifische Identität der Gallen keinen Raum für Zweifel übrig; das Substrat übt nicht den geringsten Einfluss auf ihre schliessliche Gestalt aus.

Anderes Beispiel. *Cynips tricolor*[2]) ist die zweigeschlechtliche Sommergeneration von der parthenogenetischen Wintergeneration *C. fumipennis*[3]). Im Gegensatze zu den ephemeren verwandten Arten[4]), deren parthenogenetische Generation nur in

---

Einfluss auf einander haben ausüben können. *Rhodites Mayri* war zu meiner Verwunderung infertil in Bezug auf diese Rose; dagegen hat die sibirische *Rosa acicularis* in meinen Culturen eine Menge von Bedeguaren getragen, sowohl von *Rhodites Mayri,* wie von *R. Rosae.*

[1]) Die Bedeguare sind auf *Rosa rubiginosa* und *R. canina* gemein, auf *R. pimpinellifolia* ausserordentlich selten.

[2]) *Spathegaster tricolor* von Th. Hartig.

[3]) *Neuroterus fumipennis* von Th. Hartig.

[4]) Nämlich: *Cynips baccarum* ♂♀ — *lenticularis* ♀; *C. albipes* ♂♀ — *laeviusculus* ♀; *C. vesicatrix* ♂♀ — *numismalis* ♀; *C. furunculus* ♂♀ — *ostreus* ♀.

den Monaten Februar und März vorkommt, schlüpft *Cynips fumipennis* während des ganzen Sommers aus den Wintergallen. Da das Insect nicht im Stande ist, die unversehrten Eichenknospen zu unterscheiden von denjenigen, welche schon unter dem Einfluss von *Cynips fecundatrix* den Weg der Ceciogenese eingeschlagen haben, ereignet es sich, dass man im Monate August die eleganten, von *Cynips tricolor* bewohnten Cecidien auf den Cupularschuppen der Artischokenartigen Gallen von *Cynips fecundatrix* finden kann [1]). Auch in diesem Falle sind die Eigenschaften der Galle vollständig normal.

Ich würde im Stande sein, noch eine gewisse Anzahl andere ähnliche Beispiele zu verzeichnen; ich glaube aber genug gesagt zu haben, um meine Ansicht zu begründen, welche ich wie folgt resumire:

Es existiren in dem Protoplasma, welches sich auf dem Wege der Cecidiogenese befindet, zwei selbständige Klassen scharf getrennter und grundverschiedener Eigenschaften, nämlich erstens, diejenige der erblichen, dem Cecidium und der Nährpflanze gemeinsamen, und zweitens, diejenige der temporären, nur dem Cecidium eigenthümlichen Charactere. Die letzteren besitzen überhaupt keine Constanz, und vermögen sich keiner einzigen Neubildung, welche von den Geweben des Cecidiums an sich erzeugt werden, aufzuprägen. Die Cecidien lassen sich dadurch mit den normalen Organen mit begrenztem Wachsthum vergleichen, welche ebenfalls keine Permanenz besitzen und im Falle von Neubildung in irgend ein anderes Organ zurückschlagen [2]). Ganz im Gegensatze hiermit, besitzen die Eigenschaften der anderen Klasse absolute Constanz, wenn es sich handelt um deren Transmission, sei es von der Nährpflanze auf ein Cecidium, oder von dem letzteren auf eine dadurch erzeugte Neubildung.

Schluss.

Die sehr grosse physiologische und anatomische Analogie, welche zwischen den Cecidien und den normalen Organen existiert, zwingt uns, diese augenscheinlich so verschiedenen Producte des Lebens, als durch ähnliche Kräfte erzeugt, aufzufassen. Das Verhältniss zwischen einem Vegetationspunkte und einem dadurch producirten Blatte ist kein anderes als dasjenige zwischen dem jugendlichen Blatte und einem daraus entstehenden Cecidium. Wenn, wie oben erwiesen, Wuchsenzyme das cecidiogene Protoplasma afficiren, so muss das Nämliche der Fall sein, wenn eine Blattanlage aus einem Meristeme entsteht; allein in diesem letzteren Falle ist das Wuchsenzym natürlich ein Product des pflanzlichen Protoplasma's selbst, während es im ersteren durch ein Thier in das Protoplasma der Pflanze gebracht wird.

Nach dem gegenwärtigen Stande der Wissenschaft müssen wir annehmen, dass jede erbliche, unabhängige Eigenschaft in der lebenden Substanz an eine specifische,

[1]) H. Adler in Schleswig fand noch die kleinen Gallen von *Cynips collaris* in den Achseln der Schuppen und ich selbst sah oft die Gallen von *Cynips noduli* im Innern der Cupula. Ein einziges Mal fand ich eine Curvatorgalle auf einer Schuppe dieser Galle, — ja, ich besitze ein Exemplar mit einer kleinen weiblichen Inflorescenz in einer Schuppenachsel.

[2]) Man denke an die Wurzel- und Knospenbildung aus Blättern. Dass Blätter, z. B. die der *Lygodien*, ein unbegrenztes Wachsthum besitzen können, beeinflusst die Richtigkeit unseres Vergleiches nicht.

sich durch autonome Theilung vermehrende, materielle Grundlage gebunden ist. Bekanntlich hat Darwin in seiner provisorischen Pangenesishypothese, diese materiellen Träger der Charactere »Keimchen« genannt. Seitdem ist es, besonders durch Weissmann's Arbeiten, zwar sehr wahrscheinlich gemacht worden, dass diese Keimchen nicht, wie Darwin meinte, frei durch den Körper circuliren, sondern ihren Träger, d. h. den Protoplasten ihrer Zelle, nicht verlassen können, — allein die Evidenz ihrer Existenz drängt sich uns von allen Seiten auf, sodass, wenigstens der principiellen Grundlage von Darwin's Hypothese, in der Zukunft wohl ein glänzender Sieg dürfte zu erwarten stehen. Das grösste Hinderniss zu deren Begründung sehe ich in der Schwierigkeit der Unterscheidung zwischen unabhängigen und auf Combination beruhenden Eigenschaften, und ich betrachte die Klärung eben dieses Punktes als eine wichtige Aufgabe zukünftiger biologischer Forschung. Besonders der weiteren Entwicklung der Mikrobiologie dürfte es vorbehalten sein, in diese Richtung neues Licht zu verbreiten.

Die Erfahrungen an den Cecidien weisen auf eine zweite, den »Keimchen« zwar untergeordnete, jedoch für das Zustandekommen der Formen ebenso wichtige materielle Grundlage der organischen Entwicklung hin. Diese Grundlage lernten wir oben in der Substanz der Wuchsenzyme kennen. Bei den Cecidien sind es die animalischen Drüsen, Eier oder Embryonen, aus welchen dieser zweite Factor der Gestaltbildung sich ableitet. Bei der Ontogenie, bei der normalen Entwicklung und dem normalen Wachsthume müssen es die sich durch Theilung vermehrenden »Keimchen« selbst sein, welche diese Stoffe erzeugen, um dadurch die Vermehrung anderer Keimchen zu fördern oder zu veranlassen.

Figurenerklärung.

Fig. 1 *a.* (4) Sommerknospe von *Salix amygdalina* mit Eiern von *Nematus Capreae*, welche durch die Blattsubstanz durchschimmern; *ov* Ei; *vw* Wunde; *sp* schleimführender Spaltenraum der Wunde; *or* Wundeingang; *rd* Randdrüsen der Blattzähne.

Fig. 1 *b.* (50) Ein Stück von 1 *a* stärker vergrössert.

Fig. 2. (10) *Nematus capreae*, die Säge *sg* in die Rückenseite eines jungen, durchmitten gefalteten Weidenblättchens einbohrend; *or* Wundeingang.

Fig. 3. (128) Eines der zwei Stilette der vierklappigen Säge. Neben den Sägezähnen sitzen sehr feine Tastborsten *hr*.

Fig. 4. (8) Querschnitt durch ein ausgewachsenes Cecidium, bevor die Larve die Eischale verlassen hat; *ov* noch geschlossenes Ei mit Embryo, in der geräumigen Höhlung der Galle liegend; *cc* Centralcylinder, *ec* Rinde des Gallenkörpers.

Fig. 5. (40) Stück voriger Galle, wo Blattspreite und Cecidium in einander übergehen; *lv* die noch in der Eischale *es* eingeschlossene Larve; *cc* der grüne Centralcylinder, *ec* die rothe oder farblose Rinde des Cecidiums, *hb* zwei einander zugewendete Holzbündel eines dickeren Nerven.

Fig. 6. (8) Querdurchschnitt durch ein ausgewachsenes Cecidium, eben nachdem die Larve dem Eie entschlüpft ist; die Larve *lv* fängt an den Centralcylinder *cc* aufzufressen; *ec* Gallenrinde; *or* Wundeingang.

Fig. 7. (200) Querschnitt eines jungen Blattes von *Salix amygdalina* zur Zeit, wenn die Wespe darin ihr Ei ablegt; die Pallisadeschicht muss noch eine Theilung erfahren, vergleiche hierzu die reife Spreite in Fig. 5.

Fig. 8. (20) Ebenfalls Querschnitt eines jungen Blattes von *Salix amygdalina* zur Zeit der Eiablage, um die allgemeine Anordnung zu zeigen der Wunde *vw* und des Eies *ov* in Bezug auf die Gewebe; *hb* zwei einander zugewendete Holzbündel des Mittelnerven.

Fig. 9. (26) Genitalapparat von *Nematus Capreae* in Wasser ausgebreitet; *vs* die »Giftblase«, *gv* die »Giftdrüsen«, *ovr* Ovarien mit reifen und unreifen Eiern, *sg* die Säge, *ar* letzter Abdominalring mit Abdominaltaster.

Fig. 10. (8) Cecidium ohne Ei oder Larve, entstanden unter dem alleinigen Einflusse der Substanz aus der Giftblase; *vw* Ueberrest der Verwundung, welche sich übrigens geschlossen hat; *cc* Centralcylinder, *ec* Rinde des Gallenkörpers.

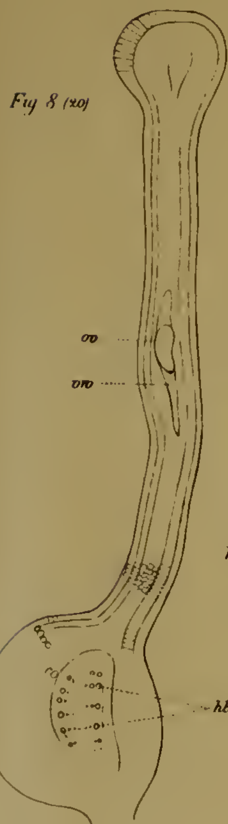


Fig 8 (20)

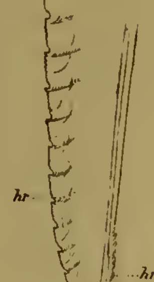


Fig 3 (128)

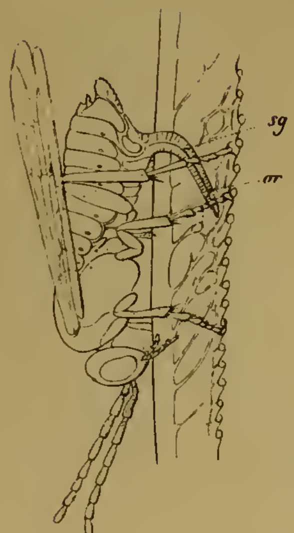


Fig 2 (10)

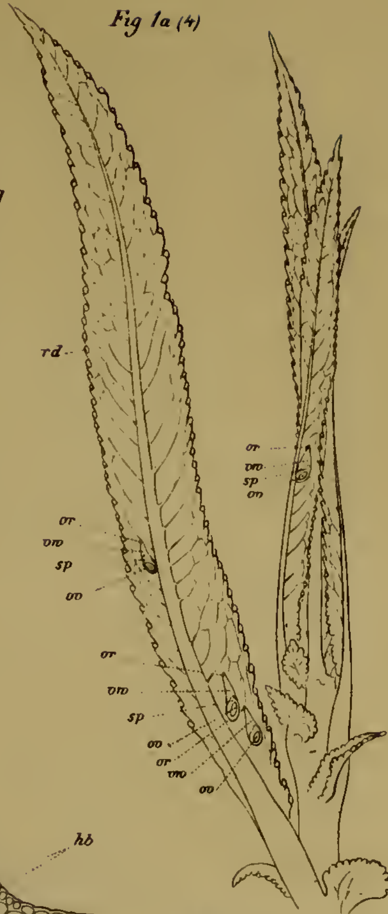


Fig 1a (4)



Fig 4 (8)

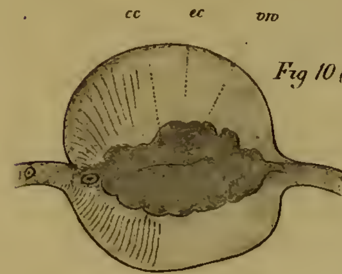


Fig 10 (8)



Fig 9 (26)

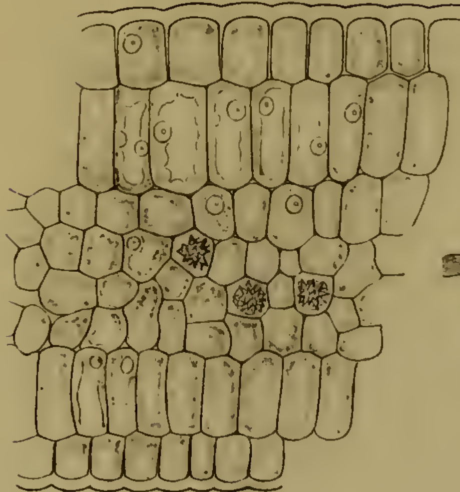

Fig 7 (200)



Fig 6 (8)

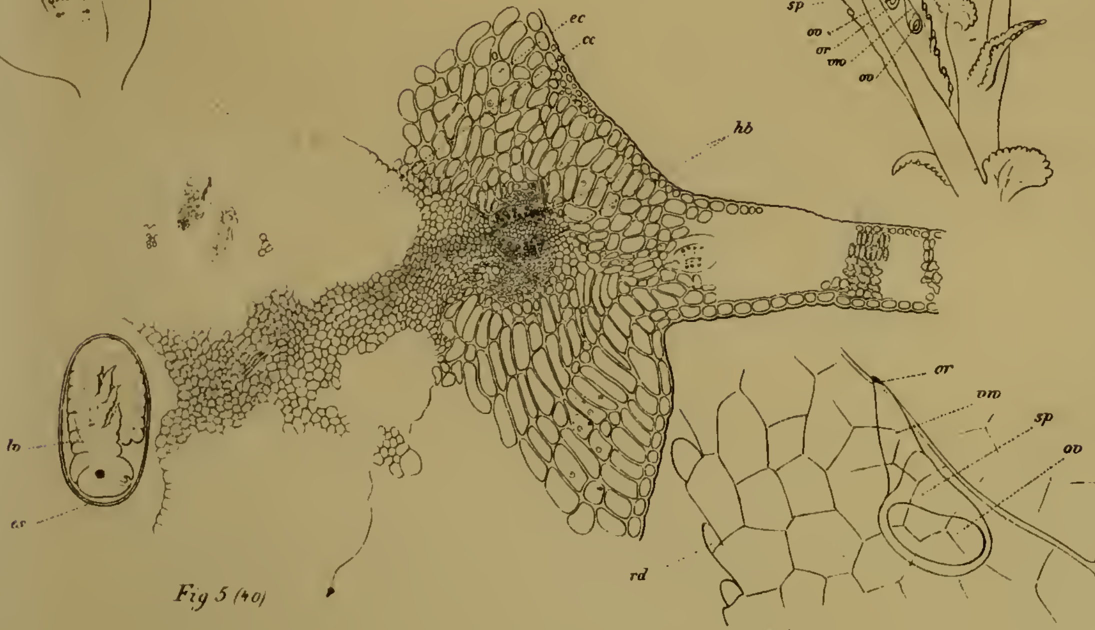


Fig 5 (40)

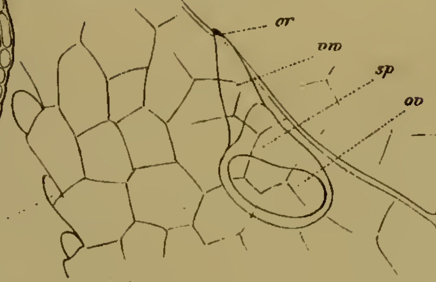


Fig 1b (50)

The Gardenia-Rootdisease [1].

The Gardeners' Chronicle, London, Vol. I, Third Series, Jan. to June 1887, p. 488—489.

This disease is occasioned by Heterodera radicicola, a small worm belonging to the order of the Nematoids, and is also related to the Heterodera Schachtii, Schmidt, the much dreaded Beetroot parasite. Other and more generally known allies are Anguillula devastatrix, the wide-spread plant-destroyer from our fields and gardens, and Anguillula aceti, from the vinegar-bottle of our dinner-table.

A great number of plants are affected by the same worm which affects the Gardenia roots, and the morbid condition caused by the worm is curiously similar in widely different plants. The occurrence of Heterodera radicicola has been observed by myself and others (especially Licopoli, Frank, and Carl Müller) in the following plants: —

Monocotyledons. — Poa annua, P. pratensis, Elymus arenarius, Triticum repens, Saccharum officinale, Musa rosacea, M. dacca, Phœnix dactylifera, and Chamærops humilis [2].

Dicotyledons. — Clematis vitalba, Berberis vulgaris, Balsamina hortensis, Vitis Labrusca, Cistus aconitifolia, Euphorbia cyparissias (?), Daucus Carota, Angelica sylvestris, A. archangelica, Carum carui, Sempervivum tectorum, S. glaucum, Sedum reflexum, Onobrychis sativa, Ornithopus sativus, Trifolium incarnatum, T. pratense, Medicago sativa, Erythrina crista-galli, Dodartia orientalis, Coffea arabica, Ixora aurea, I. flammea, I. crocea (Hamiltonia spectabilis), Dipsacus fullonum (?), Plantago lanceolata, Cucumis sativus, Taraxacum officinale, Lactuca sativa, Cichorium Intybus, Cirsium arvense, Sonchus macrophyllus; and probably the same parasite occurs in many other plants, especially in hothouses.

It may be seen from our fig. 93 that the effect of the parasitic worm on the Gardenia roots — and so it is in other plants — consists in a remarkable and very irregular hypertrophy or tumour of the root-tissues, which runs either along the full length of the root or is localised in small circumscribed places in this organ,

---

[1]) References may be made to Carl Müller, *Neue Helminthocecidie und deren Erzeugung*, Berlin 1883; to Frank, *Ueber das Wurzel-Aelchen*, &c., *Berichte d. Deutsch. Bot. Gesellschaft*, Bd. 2, p. 145, 1884; and to Carl Müller, *Bemerkungen zu meiner Dissertation* &c., *Berichte d. Deutschen Bot. Ges.*, Bd. 2, p. 221, 1884.

[2]) Treub considers the Heterodera of Saccharum officinale as a new species, called by him Heterodera javanica (*Ann. d. Jard. Bot. d. Buitenzorg*, vol. VI., p. 4, 1886), but this assumption is based only on the microscopic measurement of his material in comparison with the numbers given by C. Müller for the H. radicicola. My own numbers regarding the last species are much nearer to those found by Treub than to those of Müller.

in which last case the deformed roots assume an aspect reminding one of the normally moniliform root of Spiræa filipendula. The whole structure belongs to the endlessly varied gall productions, and it is certainly a very interesting specimen of this group of physiological alterations of the common mode of growth.

By making with a razor a thin transverse section of a thickened root, and submitting it to microscopical examination, there is revealed without difficulty, and by the relatively small magnification of from 50 to 200 diameters, a very curious sight. There we see, as shown in fig. 94, that a great number of small spherical or somewhat irregular cavities are disseminated through the morbid tissues of the root. The contents enclosed in these cavities are very different, according to



Fig. 93. — Diseased roots of Gardenia.

their age, and in one and the same microscopic preparation there may be found in some of these cavities (the youngest) a protoplasmic mass with minute oil drops, in others a great number of eggs, with or without young worms fully developed; and, in the oldest, a considerable number of these little worms, hatched from their eggs, and in active movement. All this will at once be understood when it is known that every single cavity is filled with, or rather consists of, a so-called ova-cyst, that is, the strongly swollen portion of the body of a viviparous maternal animal (see fig. 96 *i*) filled with eggs, in different gradations of development.

Before entering on the details of the bodily structure of the animal itself I must direct further attention to fig. 94 and fig. 95, showing sections of a hypertrophied root. The roots from which these preparations were taken were rather old, and their primary structure was altered by secondary or cambial growth. Now, it is a remarkable fact that the wood which is the product of this growth

never acquires, under the influence of the parasitic cysts, the hardness and consistency of the normal secondary wood, as found in healthy roots, but remains from the time of its birth by the division of the cambium cells until the moment of its premature death, in a parenchymatous, soft and sap-filled condition. In other cases of pathological alterations of plants similar observations may be made; for example, in the reproduction of a morbid parenchyma, instead of hardwood, in the case of the gum disease of certain trees,[1]) and just in the same masses as these may be found in the last case fully normal wood proceeding from the unaffected cambium; so we see by the transverse sections of the Gardenia roots affected with Heterodera insular masses (fig. 94 *xp*) of a woody structure identical with the wood of the healthy root, tracing their origin from mother-cells lying far distant from the parasitic cysts.

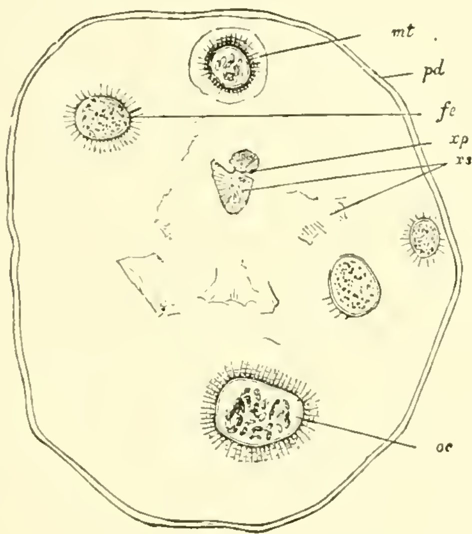


Fig 94. Disease of Gardenia roots.

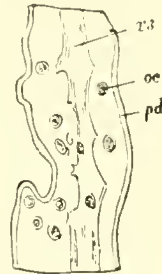


Fig 95. Disease of Gardenia roots.

After this short description of the altered organ of the plant, let us now return to the zoological side of the question.

It is said above that the cysts are nothing else but the overgrown posterior part of the body of the females, completely filled with eggs. These eggs hatch in the mother-womb, and the young worms of the new generation find their way to the outer world by boring a hole through their dead mother's body. The life-history of these little animals is not fully cleared up; it seems that they live in the damp soil surrounding the roots, as dormant animals, till their reproductive organs begin to develope, and that the moment of their invasion of the roots coincides with their accelerated growth, which neccessitates a better supply of food. From the observation of Carl Müller it appears that the process of copulation and fertilisation, which have not yet been directly seen, must take place

[1]) I recently saw this fact with unrivalled clearness in a specimen of Theobroma Cacoa of Surinam, for which I am indebted to Professor Suringar, of Leyden. Here, as formerly described in these columns for the first time, a parasitic fungus was the distinct cause of the gummosis.

in the inner parts of the root itself; but, to my mind, this part of the question is still very obscure. New observations in this direction would be of great value, as well for the natural history of the Nematodes in general as for the pathology of the worm disease in particular.

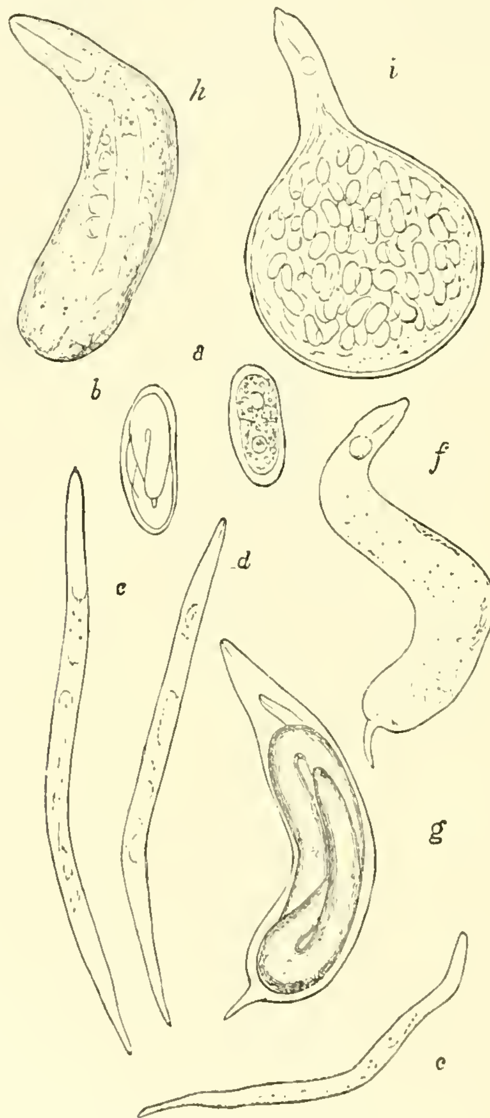


Fig. 96. — Disease of Gardenia roots.

By preparing the young worms from the eggs which are to be found in such great numbers in the ova-cysts, we find that the just-hatching animals must be of different length and girth (fig. 96, *c*, *d*, *e*). The meaning of this difference is not yet cleared up, and it seems possible that it may bear upon the several differentiations which, if we may trust the observations of C. Müller, become somewhat later very great, as illustrated in our fig. 96, in *f*, *g*, *h*, *i*.

The following references apply to the above woodcuts: — Fig. 93, Diseased root of Gardenia, real size. Fig. 94, Transverse section of diseased Gardenia root, with immature cysts *f e*, and mature cysts *o c*, with eggs, in which the young worms are coiled up; *m t*, characteristic morbid tissue; *x p*, primary, *x s*, secondary wood; *p d*, periderm, X 50. Fig. 95, Longitudinal section, references as before. Fig. 96, *a*, egg; *b*, egg with young worm: *c*, *d*, *e*, worms of various lenghts, all X 180; *f*, adult male worm, after C. Müller, X 75; *g*, male cyst, after Müller; *h*, young, and, *i*, adult female cysts, with eggs, X 75, after Müller.

[Dr. Beijerinck's drawings have been slightly reduced.] [For other references to the observations of Berkeley, W. G. Smith, and Michael on the Cucumber root worms, see *Gardeners' Chronicle*, 1855, p. 220; XV. (1881), p. 331; XVI. (1881), p. 721; XXV. (1886), p. 500; XXVI. (1886), p. 172, and in Orchid leaves (1886), p. 41. Ed.]

Over de betrekking van de vrije zuurstof tot de levensverschijnselen der gistingsorganismen.

Handelingen van het Eerste Nederlandsch Natuur- en Geneeskundig Congres, gehouden te Amsterdam 1887, blz. 34—45.

De verschijnselen van de gisting hebben ten allen tijden een buitengewone aantrekking op de mannen van de wetenschap uitgeoefend.

Niet weinige godsdienstige voorschriften en beelden in de bloemrijke taal van hed Oude Testament, zijn ontleend aan de werking van het zuurdeeg en de gist bij de broodbereiding.

De denkbeelden van de alchimisten van de oudheid en de middeleeuwen wortelen voor een belangrijk deel in de fermentatie-processen. Geber en Avicenna vergeleken den steen der wijzen met een ferment »omdat daardoor wat slecht is goed gemaakt, wat goed is niet slecht gemaakt kan worden.« De metalen asemon en diplosis van de oude papyrussen waren de fermenten. die het zilver en het goud moesten verveelvoudigen op dezelfde wijze als waarop het fermenteerende deeg aangroeit onder absorptie van het onveranderde.

Toen de beroemde Belgische scheikundige Johan van Helmont, de eerste ontdekker van het koolzuur, dit gas omstreeks 't jaar 1600 zag ontstaan bij de wijngisting, geraakte hij door deze waarneming zoozeer in vervoering, dat hij de overtuiging uitsprak, dat alle veranderingen in de levende wezens, zelfs de voortplanting, niet anders dan fermentatie-processen zijn konden.

Lavoisier's beroemde woorden »Rien ne se perd rien ne se crée« — »Niets wordt nieuw geschapen, noch door de werkingen van de kunst, noch door die van de natuur; bij elke omzetting blijft de hoeveelheid stof van het begin tot het einde gelijk; de hoedanigheid en de hoeveelheid van de elementen blijft onveranderd, er vindt slechts verandering plaats in de onderlinge vereeniging van de bestanddeelen — deze nobele woorden, de grondslag van de scheikundige wetenschap, werden hem geinspireerd bij het overdenken van het chemisme der alkoholgisting.

De wetenschappelijke onderzoekingen over de gisting zijn twee eeuwen oud. Leeuwenhoek ontdekte in 1680, met de door hem zelven geslepen glazen, in gistende vloeistoffen, blijkbaar uit de Delftsche branderijen afkomstig, ronde kogeltjes, de gistcellen, welke hij echter niet met voldoende nauwkeurigheid van de zetmeelkorrels van het meel wist te onderscheiden.

Eerst honderd jaren later deed de wetenschap op het gebied der gistingsverschijnselen eene nieuwe schrede voorwaarts.

Het was in het jaar 1787 dat de Akademie van Wetenschappen te Florence een prijsverhandeling van den italiaanschen scheikundige Fabroni bekroonde. Daarin wordt aangetoond dat de gisting onder den invloed staat van een stof,

die Fabroni vegeto-animale substantie noemt; hij hield deze stof voor identiek met het gluten der granen en den celinhoud van de druivencellen: hij had gezien, dat zich daaruit bij verhitting ammoniak ontwikkelt. Hoezeer Fabroni's opvatting uit een chemisch oogpunt niet ver van de waarheid verwijderd is, heeft hij blijkbaar het onwerkzame protoplasma en eiwit van graankorrel en druif niet weten te onderscheiden van het werkzame protoplasma van de gistcellen, wier afzonderlijk bestaan, trots de ontdekking van Leeuwenhoek, nog steeds onbekend was.

Het jaar 1787 kenmerkt zich nog door een ander feit, dat hier vermelding verdient.

Nadat van Helmont reeds in 1607 in zijn »Sleutel van duistere woorden« ter loops had aangeduid, dat het woord »alkohol« somtijds voor zekere poeders, somtijds voor gerectificeerden spiritus gebruikt werd, heeft Fourcroy in 1787 de uitdrukking »alkoholgisting« definitief in de wetenschap ingevoerd. Aan het arabische woord »alkohol« is dus niet, gelijk Lavoisier beweert door hemzelven in 1789, maar reeds twee jaar vroeger door Fourcroy de tegenwoordige beteekenis gegeven. Het waren intusschen de ontdekkingen van Lavoisier die Fourcroy tot dezen doop hebben bewogen. Hij drukt de aanleiding daartoe in de volgende curieuse bewoordingen uit: »Sints de vaststelling van de nieuwe (chemische) nomenclatuur (door Lavoisier) aan het eind van den zomer van 1787 heb ik mij verzet tegen de uitdrukking »spiritusgisting« daar het woord »geest« in het vervolg uit de wetenschap moet verbannen worden. Ik heb daarvoor in plaats de woorden wijngisting of alkoholgisting voorgeslagen.« Wij kunnen dus thans, in 1887, het eeuwfeest vieren van den naamdag van den eenigszins bedriegelijken vriend van het menschdom, en tevens dat van de beroemde theorie van Lavoisier omtrent de chemische oorzaak van zijn ontstaan.

Anderhalve eeuw moesten voorbijgaan eer de draad van de ontdekking van Leeuwenhoek opnieuw werd opgevat. Dit geschiedde gelijktijdig door twee natuuronderzoekers, Cagniard Latour en Theodor Schwann, geheel en al onafhankelijk van elkander. De eerste deelde in 1836 en '37, de laatste in 1837 het feit mede, dat de bolletjes, welke zich in gistende vloeistoffen bevinden, de oorzaak zijn van de gisting en dat zij zich door uitspruiting en deeling vermenigvuldigen evenals de cellen van de weefsels van hoogere planten en dieren waarmede zij zich ook in alle andere opzichten laten vergelijken. Door de laatstgenoemde vergelijking heeft vooral Schwann zich groote verdiensten verworven.

Liebig kon aan deze waarnemingen geen geloof schenken. Hij en Wöhler namen twee jaar later in hun »Annalen der Chemie und Pharmacie« een anonymen brief op onder den titel »Das entdeckte Geheimniss der geistigen Gährung«, waarin de nieuwe ontdekking belachelijk gemaakt wordt, en de gistcellen worden voorgesteld als vraatzuchtige dieren, die nadat zij de suiker uit hun omgeving verbruikt hebben, elkander verslinden niets overlatende als hun onverteerbare eieren.

Het nieuwe feit, hoe belangrijk ook op zich zelve, bleef, — zeker voor een deel ten gevolge van Liebig's tegenstand, — tot het jaar 1862 al te zeer alleen staan dan dat het de noodige aandacht tot zich kon trekken om vruchtbaar in de wetenschap in te grijpen.

Eerst in het jaar 1862 gelukte het aan Pasteur, aan 't hoofd van een reeks verdienstelijke natuuronderzoekers, den laatsten stoot te geven aan het wankelende

dogma van de abiogenesis, dat is van het ontstaan van levende organismen, bepaaldelijk bacteriën, uit levenlooze eiwitachtige stoffen. Van toen af aan kon er door niemand meer aan getwijfeld worden dat de gistingsprocessen niet door eiwitachtige precipitaten, niet door contact met dierlijke vliezen, en niet door trilling ten gevolge van reeds bestaande ontleding, maar door de bij de gisting steeds aanwezige levende gistcellen of bacteriën veroorzaakt worden. In de geschiedenis der biologische wetenschap zal dientengevolge het genoemde jaar als het tijdpunt beschouwd moeten worden, waarin de gisting voor goed als physiologische functie, als een werking van het leven, werd erkend.

Maar ik mag thans niet langer stilstaan bij dit aantrekkelijke oogenblik uit de geschiedenis der wetenschap.

Gelijktijdig met de omverwerping van de abiogenesis, gelukte het aan Pasteur, een ander daarmede nauw verbonden gezichtspunt te ontwikkelen, waarvan hij zelve zeide »dat daarmede een nieuwe physiologie was ontsloten.« De mogelijkheid van het leven zonder vrije zuurstof, de anaerobiose is het hier bedoelde feit, dat door Pasteur aanvankelijk blijkbaar als zijn belangrijkste wetenschappelijke vinding werd beschouwd. Op 25 Febr. 1861 deed Pasteur daarvan mededeeling in de Akademie van Wetenschappen te Parijs, en tastte daarmede een ander alom verspreid wetenschappelijk dogma aan, het dogma van de onmisbaarheid van de vrije zuurstof voor het leven, waaraan de groote naam van Lavoisier onafscheidelijk verbonden was.

In 1774 had Priestley de zuurstof ontdekt. Twee jaren later werden door Lavoisier de samenstelling van het koolzuur en het wezen van de verbranding van de organische stoffen vastgesteld. In den zomer van 1779 ontdekte onze landgenoot Ingenhousz de plantenademhaling en de chlorophyllfunctie. Toen nu, de eerst door Lavoisier alleen, later door hem in verbinding met Séguin uitgevoerde proeven over den gaswissel bij de ademhaling der dieren, in de jaren 1777 en 1789 in het licht verschenen, was daarmede een daad verricht van zoo groote beteekenis, dat drie vierde deelen van een eeuw konden voorbijgaan, eer de ernstige tegenwerping van de anaerobiose de vraag deed rijzen of de algemeen aangenomen stelling van de noodzakelijkheid van de vrije zuurstof voor het leven, werkelijk als bewezen moest worden beschouwd.

Wel is waar was reeds kort na het bekend worden van de uitkomsten der proeven van Ingenhousz en Lavoisier, door Rollo en de Saussure voor planten, en beter nog door den italiaanschen abt Spallanzani, die met rupsen, slakken en kruipende dieren had geëxperimenteerd, het bewijs geleverd, dat de koolzuurafscheiding uit de levende weefsels niet direct van de vrije zuurstof afhangt, maar zelfs in een stikstof- of waterstofatmospheer een geruimen tijd, bijvoorbeeld 3—6 uren, met een, aan die in lucht gelijkgebleven, of ten opzichte daarvan slechts weinig verminderde intensiteit, kan voortduren. Maar de algemeene aandacht richtte zich op deze uitkomsten even min, als op de overeenkomstige en betere waarnemingen van Bérard in 1821 en van William Edwards in 1824. Het »zonder vrije zuurstof geen leven« bleef standhouden tot in onze dagen.

Eerst Pasteur, zooals wij zagen, heeft den grondslag dezer stelling aan het wankelen gebracht.

Door de waarneming van de verschijnselen der anaerobiose is er een nieuw

licht opgegaan aangaande de rol van de zuurstof met betrekking tot het leven, meer in 't bijzonder tot den groei en de celdeeling.

Het is daardoor tevens duidelijk geworden met welk van de physiologische processen van de organismen, die geen gisting veroorzaken, de gistingsfunctie moet vergeleken worden. Bij deze vergelijking is in overeenstemming met de oudere onderzoekingen, boven vermeld, op nieuw gebleken, dat het ademhalingsproces van de levende stof niet enkelvoudig is, maar uit twee factoren bestaat, en dat er naast de koolzuurafscheiding ten gevolge van den directen invloed van de vrije zuurstof, in de weefsels een werking verscholen is, die bij de gistingsorganismen tot een hoogen graad van intensiteit en volkomenheid is opgevoerd. Deze werking is, wij zagen het reeds, de koolzuurafscheiding uit het levend protoplasma, die voortduurt wanneer de vrije zuurstof ontbreekt, en waaraan sints 1875 door Pflüger en anderen de naam van intramoleculaire ademhaling is gegeven.

De overtuiging van de algemeenheid van het bestaan dezer werking, en van de overeenkomst daarvan met de gisting gaf in Juli 1872 aanleiding tot een der merkwaardigste physiologische voorspellingen, die spoedig door de feiten werd bevestigd. Pasteur doet daarvan het volgende verhaal: »Toen ik eens mijn denkbeelden over de algemeenheid der gisting in mijn laboratorium voor Dumas ontwikkelde, die zeer geneigd was de juistheid daarvan te erkennen, zeide ik te willen wedden, dat er bij het plaatsen van een tros druiven in een koolzuuratmospheer onmiddellijk alkohol en koolzuur zou worden gevormd, door een nieuwen inwendigen arbeid der cellen van het binnenste van de vruchten, die zich dan op dezelfde wijze als gistcellen moeten verhouden.« Pasteur voerde de proef uit; en toen Dumas, die in het laboratorium van Pasteur werkte, den volgenden morgen terugkwam, was de weddenschap gewonnen. Beiden zochten zorgvuldig naar gistcellen, maar deze waren volkomen afwezig.

Van dien tijd af aan kan het als bewezen beschouwd worden, dat de gisting een bijzondere vorm is van het ademhalingsproces. Beide zijn bronnen van energie, waaruit de krachten voor het leven kunnen geput worden. Bij de gewone organismen is de gisting ondergeschikt en komt slechts aan den dag als de vrije zuurstof, noodig voor het onderhouden van de zuurstofademhaling, ontbreekt. Bij de gistingsorganismen is het omgekeerd, hier treedt juist de zuurstofademhaling meer op den achtergrond, ja, deze kan bij de streng-anaerobieen zelfs geheel verdwijnen.

De levendige tegenspraak, die sints het bekend worden van de ontdekking der anaerobiose van vele zijden is aangeheven, en die zelfs op dit oogenblik nog volstrekt niet verstomd is, vloeit naar mijn overtuiging voor een deel uit de onzekerheid voort, die aan het woord »gisting« verbonden is.

Onder dit woord worden door de helderste geleerden, Pasteur zelf niet uitgezonderd, velerlei processen samengevat, waarvan men de natuur volstrekt niet kent, bijv. de rotting en de boterzuurvorming, of waarvan het verloop zóó geheel verschillend is van dat van de alkoholgisting, dat er niet de minste grond bestaat om ze daarmede in eenig opzicht te vergelijken; dit geldt bijv. voor de azijnvorming en de omzetting van het ureum in koolzure ammoniak. Blijkbaar heeft het nimmer in de bedoeling van den ontdekker van de azijnbacteriën gelegen, de oxydatie van den alkohol door vrije zuurstof, als voorbeeld zijner gistingstheorie te kiezen, die hij zelf in deze woorden heeft uitgedrukt: »La fermentation

est la consequence de la vie sans air.« Maar dit neemt niet weg, dat Pasteur duidelijker had moeten uiteenzetten, wat hij onder gisting wenscht verstaan te zien; door dit te verzuimen heeft hij zich blootgesteld aan misvatting en rechtmatige critiek.

Om zelf dit gevaar te ontgaan, zal ik trachten een definitie voor het woord op te stellen die zoowel voldoet aan de eischen der geschiedenis als aan de instinktmatige opvatting der beste physiologen.

Aan de definitie behoort de meest essentieele eigenschap van wat zij omschrijft ten grondslag te liggen, en tevens moet zij aanleiding kunnen geven tot een proef, waardoor voor elk bijzonder geval het al of niet bestaan van gisting kan worden beslist. Wel is waar zullen daardoor zekere, tot nu toe als gistingen beschouwde processen niet langer daaronder gerangschikt kunnen blijven, maar de vooruitgang der wetenschap berust evenzeer op ontbinding als op samenvatting.

Het woord »gist« komt als zoodanig reeds in het angel-saksisch voor en beteekent, evenals het engelsche »yeast« en het noord-duitsche »gäscht«, schuim.

De woorden »gähren«, »gäsen«, »göschen« en »gischen«, die in de duitsche taal voorkomen hebben even als het woord »fermentatie« betrekking op opbruisen. De klank dezer woorden doet mij vermoeden, dat het word »gas«, waarvan ik op de schoolbanken leerde, dat het een zinlooze samenvoeging van letters is, gevormd werd naar analogie van een der genoemde woorden. Van Helmont namelijk, bij wien dit woord voor het eerst voorkomt, maakt daarvan gebruik om het koolzuur, waarvan hij de vorming, zooals wij boven zagen, bij de alkoholgisting ontdekte, als »gas sylvestre« en de lucht als »gas ventosum« aan te duiden. Van Helmont's enthusiasme voor de gisting versterkt mij in mijn vermoeden. Maar keeren wij tot ons onderwerp terug.

Het fransche »levure« en »levain« en het engelsche »leaven« staan in verband met opzwellen of opheffen; en dit zelfde geldt van het duitsche »Hefe«. Het angel-saksische en oudhollandsche woord voor gist »barm« of »bearm« is verwant met »beren«, dat dragen of opdragen beteekent, en waarmede ook wel het woord »bier« in verband zal staan. Ja zelfs het woord »wijn« komt door een zonderling spel van het toeval van het hebreeuwsch »yine«, dat eveneens »zich opheffen«, »schuim vormen« of »koken« beteekent, en waarvan ook de meeste andere vormen voor wijn in de westersche talen van Europa afkomstig zijn.

Al deze uitdrukkingen bewijzen, dat men aan de gisting steeds en in de allereerste plaats het denkbeeld van gasontwikkeling heeft verbonden. Bij het vaststellen der definitie mag van dit historische gegeven niet worden afgeweken.

Maar laat ons thans luisteren naar de stem der wetenschap.

De gassen, welke bij die gistingen ontstaan, die het doel van een eenigermate bevredigend wetenschappelijk onderzoek hebben uitgemaakt, zijn òf het koolzuur alléén, òf het koolzuur vermengd met waterstof, òf koolzuur met moerasgas. Alleen het koolzuur ontbreekt dus bij de gistingen nimmer.

Stelt men nu de kwantitatieve verhouding vast van het bij een gisting ontwikkelde koolzuur tot de hoeveelheid van de bij deze gisting opgenomen zuurstof, dan vindt men, dat deze verhouding steeds grooter dan de éénheid is, en bij de echte anaerobiose oneindig nadert $\left(\frac{CO^2}{O} > 1\right)$.

Vergelijkt men hiermede de verhouding waarin de opgenomen zuurstof en het afgescheiden koolzuur bij de overigen meer nauwkeurig onderzochte organismen, hetzij dieren of planten, tot elkander staan, dan vindt men daarvoor een verhouding, die bijna gelijk is aan de éénheid $\left(\frac{CO^2}{O} = 1\right)$, maar bij de directe bepaling om verschillende redenen steeds iets kleiner uitvalt, zoodat bij het leven van gewone, geen gisting veroorzakende organismen, eer absorptie dan vrijwording van gas bij het ademhalingsproces plaats heeft. Chemisch vindt deze verhouding haar verklaring in het feit, dat het ademhalingsvoedsel van planten en dieren een koolhydraad is, waaruit bij de oxydatie evenveel koolzuur ontstaat als er zuurstof wordt opgenomen.

De betrekking tusschen de hoeveelheden opgenomen zuurstof en uitgescheiden koolzuur bij planten en dieren, wier levensverrichtingen op de gewone wijze verloopen, is dóor vele verdienstelijke onderzoekers vastgesteld. Ik herinner hier in het bijzonder aan de lange reeks van waarnemingen van Regnault en Reiset. Zij plaatsten verschillende diersoorten in hun ademhalingsapparaat en vonden, als het gemiddelde hunner waarnemingen, de verhouding $\frac{CO^2}{O} = 0{,}7$ à 0,8, ja bij een marmot in winterslaap, waarbij de lichaamstemperatuur tot ongeveer 11^0 C. was gedaald, werd zelfs $\frac{CO^2}{O} = 0{,}4$ gevonden[1]). Dat al hun getallen, evenals de latere door Paul Bert vastgestelde, zonder uitzondering kleiner dan de éénheid zijn, moet worden toegeschreven aan de gedwongen rust, waarin de onderzochte dieren in het apparaat verkeerden: gedurende de rustperiode binden de weefsels een zekere zuurstofovermaat, zoodat daarbij een soort van oxydatie plaats heeft, die bij de slapende marmotten buitengewoon groot is; bij de beweging overtreft het volume van het afgescheiden koolzuur dat van de opgenomen zuurstof; — en het is bekend, dat de stofwissel van de weefselademhaling voor het gemiddelde leven vrij nauwkeurig wordt uitgedrukt door de verbrandingsformule van de koolhydraten, dat is $\frac{CO^2}{O} = 1$. Waarom alle door Bonnier en Mangin voor plantendeelen gevonden getallen in een verhouding staan die kleiner is dan de éénheid (het gemiddelde van vele hunner waarnemingen is $\frac{CO^2}{O} = 0{,}8$), wordt door deze schrijvers niet overwogen; indien het feit als wèl bewezen mag worden beschouwd, bewijst het slechts, dat in hun onderzoekingsmateriaal oxydatieprocessen, zooals de vorming van koolhydraten uit vetten, of glucose uit mannit, of van organische zuren uit koolhydraten hebben plaats gegrepen, want aan het evenwicht tusschen het volume van het afgescheiden koolzuur en de opgenomen zuurstof bij het ademhalingsproces der planten, indien men het gemiddelde van alle levensphasen in aanmerking neemt, kan sinds de onderzoekingen van de Saussure uit de eerste jaren van deze eeuw niet meer getwijfeld worden.

De experimenteele gegevens, waaruit de verhouding $\frac{CO^2}{O}$ voor de gistings-

[1]) Men ziet hieruit tevens, hoe weinig invloed de gistingsprocessen in het darmkanaal uitoefenen op de getallen, die den totalen gaswissel van de ademhaling aangeven.

organismen is af te leiden, zijn slechts weinige in getal. Pasteur geeft aan, dat bij de gewone alkoholgisting (hij onderzocht *Saccharomyces cerevisiae)* bij zeer sterken zuurstof-toevoer meer van dit gas wordt opgenomen dan bij zwakken toevoer, en dat in zoodanig geval naast de alkoholische gisting een gewone ademhaling onder vorming van koolzuur en water ten koste van de koolhydraten plaats heeft; zooals men ziet moet daardoor de verhouding $\frac{CO^2}{O}$ de éénheid naderen. Ja, Pasteur gaat zelfs zoover van te beweren, dat het mogelijk moet zijn om de alkoholische gisting geheel te doen ophouden en plaats te laten maken voor de normale ademhaling, door aan de cellen volle vrijheid van zuurstofabsorptie te geven. Hoppe-Seyler deelt dit gevoelen van Pasteur. Proeven met het doel om dit punt te beslissen, door Müntz genomen, hebben echter deze theorie van Pasteur volstrekt niet bewezen. Integendeel, toen Müntz vrije zuurstof in overmaat door een in gisting verkeerende glucose-oplossing voerde, gelukte het hem niet de hoeveelheden alkohol en afgescheiden koolzuur ten opzichte van elkander in eene andere verhouding dan die van de gewone alkoholische gisting te brengen. Proeven met waterstof-superoxyd hebben mij hetzelfde resultaat gegeven; en de practische ervaringen van de spiritus-industrie zijn hiermede en niet met de opgaven van Pasteur in overeenstemming.

Ik zie nog geen kans om de tegenspraak, die hier bestaat, volledig op te helderen, maar het komt mij mogelijk voor, dat in het door Pasteur gekozen voedsel, in verband met de voor zijn proeven gebruikte soorten of varieteiten van gist, de sleutel voor de oplossing daarvan moet gezocht worden. Het voedsel speelt namelijk bij het ademhalingsproces een bijna even groote rol als de zuurstof zelve, en indien de gistcellen niet in staat zijn de aangeboden organische stoffen hetzij door enzymen of op andere onbekende wijzen vooraf in glucose om te zetten, dan kan er geen normale alkoholische gisting plaats hebben. Van den stofwissel, die in zulke gevallen moet intreden, kan men zich evenwel tegenwoordig nog slechts een zeer onvolkomen voorstelling maken.

Hoe belangrijk deze laatste overwegingen echter op zich zelve ook mogen wezen, voor de vaststelling van een juiste bepaling van het woord gisting zijn zij van ondergeschikt belang, want men is, als het op proeven aankomt, steeds in staat glucose als voedsel te verstrekken.

Uit onze beschouwing volgt dus, dat de gisting die vorm van het ademhalingsproces is, waarbij meer gas uit het organisme vrij wordt dan daarin uit de omgeving binnen dringt. Gelijk men ziet behoort volgens deze definitie de ademhaling der weefsels bij afwezigheid van zuurstof, door Spallanzani en de Saussure ondekt, werkelijk als gisting te worden opgevat.

Het wordt tevens door deze definitie duidelijk, waarom de gisting steeds samengaat met een meerderen of minderen graad van anaerobiose. De stelling van Pasteur »La fermentation est la conséquence de la vie sans air« is met de definitie in overeenstemming, wanneer men slechts bedenkt dat het woord »zonder« hier te veel zegt.

Een belangrijk wetenschappelijk resultaat van de ontdekking der anaerobiose is het volgende. De gistcellen kunnen zeer goed leven en zich vermenigvuldigen in een vloeistof, die volkomen vrij is van zuurstof, indien zij slechts vooraf in

de gelegenheid zijn geweest, door contact met de vrije lucht, een zuurstofreserve aan te leggen. Naarmate de zuurstofreserve vermindert, verandert de gist meer en meer in een gewoon aerobie organisme. Is deze reserve geheel opgebruikt, dan gaat daarmede de levensvatbaarheid in een zuurstofvrije ruimte eveneens verloren.

De vrije zuurstof is dus voor het in stand houden van het leven van de gist op den duur onmisbaar. Maar de hoeveelheid zuurstof daarvoor noodzakelijk is uitermate gering; een berekening daarvan laat zich bij den tegenwoordigen toestand der wetenschap niet geven, maar zeker is het, dat zij bijna in het niet verdwijnt, vergeleken met de hoeveelheid van het door de gisting gevormde koolzuur, of met de hoeveelheid zuurstof door de gist onder gewone omstandigheden geabsorbeerd.

De rol, die de zuurstof ten opzichte van het leven vervult, is dus een tweevoudige. De namen oxydatiefunctie en excitabiliteits- of prikkelfunctie zijn voor deze beide werkingen de meest juiste uitdrukkingen.

Door de oxydatie wordt energie in vrijheid gesteld, die ook op een andere wijze, namelijk door de gisting, kan worden verkregen. De eigenlijke beteekenis der prikkelfunctie is onbekend.

Pasteur kende de prikkelwerking van de zuurstof op de levensprocessen van de gist aanvankelijk niet; het duurde tot 1876 eer hij op het bestaan daarvan heeft gewezen. In 1880 liet hij zijn leerling Cochin de welbekende proef met de aan elkander verbonden zuurstofvrije kolven uitvoeren. En eerst thans begint de wetenschap zich eenigermate van deze zonderlinge ontdekking bewust te worden.

Er zijn enkele bacteriën bekend geworden, die de vrije zuurstof schuwen, en waarvan de cultuur eerst gelukt bij een meer of minder volledige afsluiting van dit gas. Maar het is zeker, dat zij bij het normale leven nu en dan met de atmospheer in contact komen.

Zouden ook zij uiterst geringe hoeveelheden vrije zuurstof moeten binden om op den duur in stand te blijven? De wetenschap heeft het antwoord op deze vraag nog niet ten volle gegeven, maar van alle zijden daagt het licht en spoedig zal ook dit punt tot klaarheid worden gebracht.

Maar, kunnen wij verder vragen, laat het antwoord, dat eerst de tijd met zekerheid zal kunnen geven zich thans reeds voorzien?

Indien deze vraag met juistheid wordt overwogen, dan geloof ik dat dit het geval is.

Meer en meer begint het feit de aandacht tot zich te trekken, dat de bacteriën sterk reduceerende werkingen op hun omgeving kunnen uitoefenen. De ontkleuring van indigoblauw en van lakmoes zijn daarvan algemeen bekende voorbeelden. Ik zelf vond een bacterie die gemakkelijk salpeter in kaliumnitriet omzet, en Gayon en du Petit vermelden zelfs de ontwikkeling van stikstofoxyde en stikstofoxydule uit salpeter door bacteriënwerking. Is het nu geoorloofd hieruit af te leiden, dat deze organismen de sporen van vrije zuurstof, die zij voor hun leven wellicht behoeven, door reductie aan het voedsel in hun omgeving kunnen onttrekken?

Voor zoover zich deze vraag thans laat overzien, is dit volstrekt niet het geval. De reduceerende werking wordt evenzeer bij soorten, die een overvloed van vrije zuurstof behoeven, zooals het azijnferment en de hooibacterie, als bij de

streng anaerobiee bacterie van de normale butylalkoholgisting (*Bacillus Amylobacter*) gevonden, en is dus blijkbaar in geenen deele verbonden met de behoefte aan vrije zuurstof.

De echte anaerobieen zijn echter in de hoogste mate gevoelig voor den invloed van de vrije zuurstof van lage spanning. De eenige soort daaronder, die ik aan een langdurig onderzoek heb kunnen onderwerpen, de zooeven genoemde zetmeelbacterie, *Bacillus Amylobacter*, het organisme van de normale butylalkoholgisting, groeit en gist wel is waar alleen met groote levendigheid in zuurstofvrije of zuurstofarme voedingsvloeistoffen, maar de aard van de gistingsproducten, de gedaante, de bewegelijkheid en het sporenvormend vermogen staan, volgens mijn ondervinding, bij deze soort zoozeer onder den invloed van vrije zuurstof van lage spanning, dat aan het bestaan van den zuurstofprikkel, voor het op den duur in stand houden der levensverrichtingen, hoezeer de gegevens voor de beoordeeling van dit vraagstuk tot nu toe indirect zijn, in dit geval niet getwijfeld kan worden.

Indien de onafhankelijkheid van de vrije zuurstof werkelijk bestaat, dan schijnt er het meest kans te zijn, dat zij gevonden zal worden bij de zoogenoemd facultatief-anaerobiëen, dat is bij die soorten, die met dezelfde gemakkelijkheid in zuurstofvrije als in zuurstofhoudende voedselvloeistoffen kunnen leven.

Wij hebben boven gezien, dat de gewone gist een zoodanig facultatief anaerobie organisme is, maar in een zuurstofvrije omgeving alleen dan kan leven, wanneer zij vooraf een kleine zuurstofreserve door contact met vrije zuurstof heeft kunnen aanleggen. De mucorgist verhoudt zich op dezelfde wijze als de gewone gist.

Maar wat leeren in dit opzicht de zooveel lager georganiseerde bacteriën?

Vooreerst een woord over de melkzuurfermenten [1]).

Ik moet beginnen met de opmerking, dat de melkzuurvorming geen eigenlijke gisting schijnt te wezen, want met gasontwikkeling behoeft dit proces niet noodzakelijk gepaard te gaan. Intusschen veroorzaken de melkzuurfermenten der gistingsindustrie, wanneer men slechts voor luchtafsluiting zorg draagt, een zoo hevige ontwikkeling van koolzuur, dat men een alkoholgisting voor zich meent te zien. Hierbij ontstaat melkzuur in belangrijke hoeveelheid, maar tevens andere stoffen, welke nog niet nader onderzocht zijn, en die ongetwijfeld met het koolzuur als de eigenlijke gistingsproducten moeten beschouwd worden.

Deze melkzuurfermenten zijn facultatief anaerobie. Door langdurige onttrekking van zuurstof kon ik daaraan de geschiktheid tot vermeerdering, groei en gisting in een zuurstofvrije vloeistof wel is waar nog niet ontnemen, maar ik bemerkte onder deze omstandigheden, behalve de genoemde verandering in het chemisme van de gisting, een belangrijke wijziging in den vorm. Deze feiten maken het waarschijnlijk, dat verder onderzoek ook daarbij het bestaan van den zuurstofprikkel aan het licht zal brengen.

Verder voerde het onderzoek van een groep van falcultatief-anaerobiee bacteriën, verwant of identiek met *Bacillus lactici aerogenes* Escherich, welke in elke rottende vloeistof voorkomen, en aanleiding geven tot de ontwikkeling van koolzuur en

[1]) Het melkzuurferment van karnemelk is een gewoon aerobie organisme en blijft hier buiten bespreking. Dat uit kefir is facultatief anaerobie en nauw verwant met de industrieele fermenten.

waterstof, mij tot de overtuiging, dat zij het contact met de vrije zuurstof slechts zeer kort kunnen missen.

Alleen bij de biersarcine, een kleine melkzuurmikrococcus, kon ik noch door toevoer noch door onttrekking van zuurstof, de allerminste wijziging bespeuren in het verloop van de levensprocessen. Maar ik kan geen gewicht hechten aan enkele onvolledige en strijdige waarnemingen tegenover een lange reeks van welsprekende feiten.

De slotsom van al deze beschouwingen laat zich gemakkelijk opmaken.

De stelling, dat de vrije zuurstof noodzakelijk is voor het leven, heeft zich tot nu toe, niettegenstaande zij in 1861 dreigde om te storten, tegen alle verwachting weten staande te houden.

De beteekenis dezer stelling is echter geheel en al veranderd.

Toen zij ontstond werd gemeend dat de zuurstof noodzakelijk is omdat zij oxydatie veroorzaakt; — de ademhaling, de bron der levens-energie, werd als een oxydatieproces beschouwd.

In de gisting werd een bron van energie erkend, die de oxydatie kon vervangen. De heerschappij der zuurstof scheen gevallen.

Men had zich vergist. Van een geheel andere zijde, en met tot nu toe onbetwist recht, verscheen de vrije zuurstof plotseling op nieuw op het tooneel der wetenschap. In het geheimzinnige gewaad der excitabiliteits-of prikkelfunctie, noodzakelijk voor de instandhouding der levensbeweging, beheerscht zij, volgens de gegevens onzer hedendaagsche kennis, in onmeetbaar kleine hoeveelheden het leven in zijn ganschen omvang, van de hoogste verrichtingen der zenuwcellen tot de eenvoudigste der bacteriën.

De toekomst moet leeren of zij zich voor altijd op haar troon zal weten te handhaven.

En nu nog een enkel woord tot besluit.

Overzien wij de voorafgaande bladzijden in verband met enkele andere daarmede nauw verbonden ontdekkingen, dan ontwikkelt zich een eigenaardig geschiedkundig beeld.

Het is thans twee eeuwen geleden dat Antonie van Leeuwenhoek de bacteriën en de gist ontdekte. In 1680 herkende hij de gist. Drie jaren later, 14 Sept. 1683, schreef hij zijn beroemden brief aan de Royal Society te Londen, waarin hij de ontdekking der bacterien mededeelt, die hij voor 't eerst in tandslijm heeft waargenomen. Juist twee eeuwen geleden in 1687 verscheen zijn »Anatomia« waarin hij de aanwezigheid van spirillen in het menschelijk darmkanaal beschrijft.

Juist 100 jaren zijn verstreken sinds Fabroni, in 1787, de eerste gistingstheorie, die op wetenschappelijke gegevens berust, uitsprak. Omstreeks dienzelfden tijd werden het ademhalingsproces en de chorophyllfunctie der planten door onzen landgenoot Ingenhousz ontdekt, en verschenen Lavoisier's klassieke verhandelingen over de dierlijke ademhaling en de theorie van de alkoholvorming uit suiker.

Leeuwenhoek was zijn tijd ver vooruit geweest en deze was nog niet gerijpt bevonden om zijn mikroskopische ontdekkingen te kunnen waardeeren of gebruiken. Anderhalve eeuw moesten voorbijgaan eer Cagniard Latour en Schwann, Leeuwenhoeks ontdekking herhaalden en uitbreidden en den

grondslag legden van de vitalistische gistingstheorie. Dit geschiedde juist 50 jaar geleden, in 1837.

De ironie van het noodlot wilde, dat de overwegende invloed van Liebig's genie de verspreiding der nieuwe gezichtspunten 25 jaar lang tegenhield.

Maar na verloop van dien tijd is de wereld verrast geworden door een reeks van ontdekkingen op het gebied der kleinste levende wezens, die in diepte en omvang alle vroegere waarnemingen ver overtroffen hebben. In 1862 verscheen Pasteur's »Onderzoeking over de levende kiemen van de dampkringslucht en naar het al of niet gerechtigd zijn van de hypothese der spontane generatie«. De vitalistische gistingstheorie was van toen af onbetwistbaar; de kiemtheorie der infectieziekten was geboren. Nieuwe uitzichten aangaande de betrekking van de vrije zuurstof tot het leven verschenen aan den wetenschappelijken gezichteinder.

Op nieuw zijn er juist 25 jaren sints dat oogenblik verloopen.

Heden voor 50 jaren maakte Darwin, gelijk wij onlangs van een spreker in the British Association vernomen hebben, zijn eerste aanteekeningen over de transmutatie der soorten.

Waarlijk het oprichtingsjaar van het Nederlandsch Congres van Natuur- en Geneeskundigen is het jubeljaar van een constellatie van biologische ontdekkingen van zeldzame belangrijkheid. Wie zou daarin geen gelukkig samentreffen, geen hoopvol voorteeken wenschen te zien? Het is alsof de muze der Nederlandsche Wetenschap in dit jaar een gedenkzuil, die den tijd zal tarten, heeft gewenscht te zien opgericht ter eere van de mannen wier geest is doorgedrongen in de schuilhoeken van het leven.

Mogen de tallooze welbeschreven waarnemingen, welke tegenwoordig als vonken op het uitgestrekte veld der biologische wetenschap gloren, wanneer dit congres zijn 25-, zijn 50-, zijn 100-jarig jubelfeest zal vieren, door de leden daarvan aangewakkerd zijn tot gewichtige gezichtspunten en omvattende theorieën, die als vlammende fakkels nieuw licht zullen werpen in het verstand van bewonderende en dankbare tijdgenooten en nazaten!

Die Bacterien der Papilionaceen-Knöllchen.

Botanische Zeitung, Leipzig, 46. Jahrgang, 1888, S. 725—735, 741—750, 757—771
781—790, 797—804.

Da die Papilionaceenknöllchen so vielfach und in den besten Zeitschriften besprochen sind[1]), kann ich deren Structur und morphologische Eigenschaften zwar als bekannt voraussetzen, allein, da ich dieselben von einem neuen Gesichtspunkte aus zu betrachten habe, erscheint eine kurze Darstellung dieser Verhältnisse meinerseits nicht überflüssig.

Nach dem Beispiele von Brunchorst[2]) sollen auch von mir die eigenthümlichen Inhaltskörperchen als »Bacteroiden« bezeichnet werden. Zur Umgehung jeder Zweideutigkeit hebe ich schon hier hervor, daß diese Bacteroiden aus einer von aussen in die Wurzeln einwandernden Bacterienart, welche ich *Bacillus Radicicola* nenne, entstehen und nicht, wie Brunchorst meint, autonome Bildungen des pflanzlichen Protoplasmas sind. Die Bacteroiden sind metamorphe Bacterien, welche ihre Entwicklungsfähigkeit verloren haben und als geformte Eiweisskörperchen fungiren können. Sie sind durch eine continuirliche Bacterien-Reihe von stufenweise ungleicher Vegetationskraft mit der normalen Form von *Bacillus Radicicola* verbunden.

Die aus den verschiedenen, von mir untersuchten Papilionaceen herkünftigen Formen von *Bacillus Radicicola* sind zwar sehr ähnlich, bieten aber Verschiedenheiten dar, welche sich in den Gelatineculturen wenigstens Monate lang als constant erweisen und zur Aufstellung mehrerer Varietäten veranlassen, welche sich zu zwei, nicht scharf getrennten Gruppen vereinigen lassen. Ob ich bei der Aufstellung

---

[1]) Die wichtigste Litteratur ist folgende: Malpighi, Opera, T. 2, p. 126, Leiden 1867, giebt die erste Beschreibung und erkennt die Knöllchen als Gallenbildungen. Woronin, Mém. de l'Acad. d. St. Pétersb. T. 10. Nr. 6, 1866, erweist das Vorkommen von lebenden Bacterien in geschlossenen Zellen der Knöllchen. Eriksson, Acta Univ. Lund, T. 10, 1873, und Cornu, Étude sur le Phylloxera, p. 159, Paris 1878, stellen die Natur der Knöllchen als metamorphosirte Seitenwurzeln mit einer ganz eigenthümlichen Structur fest. De Vries, Landwirthsch. Jahrb. Bd. 6, S. 936, 1877, beschreibt die Stoffwanderung bei der Entwicklung und erklärt die Knöllchen für Eiweissspeicher. Frank, Bot. Ztg. 1879, S. 832, zeigt, dass die Knöllchen nicht in sterilisirtem Boden entstehen. Tschirch, Berichte d. d. Bot. Ges. Bd. 5, S. 58, 1887, stellt die Litteratur zusammen und begründet die Ansicht, dass die Bacteroiden als Reserveeiweiss fungiren, näher. Marshall Ward, Philosoph. Trans. V. 178. p. 539, 1888, beweist, dass die Knöllchen bei den Culturen von *Vicia Faba* in sterilisirter Nährlösung ausbleiben, allein darin üppig hervorsprossen, wenn zerschnittene Knöllchen zwischen die Wurzelhaare gebracht oder, wenn z. B zehn Tage alte Keimlinge aus Gartenboden für die Wassercultur verwendet werden.

[2]) Berichte d. d. Bot. Ges. Bd. 3, S. 245, 1885.

dieser Varietäten nicht oft die Erscheinung der Schwächung der Vegetationskraft und die damit zusammenhängenden Eigenthümlichkeiten als Varietätsmerkmale angesehen habe, wird die Zukunft lehren.

Entwicklungsfähige Bacterien lassen sich am sichersten in den sehr jungen, sowie in der Meristemzone der älteren Knöllchen auffinden, woraus sie sich in unzähligen Colonien züchten lassen; dieselben können, auch im Meristem, ihre Vegetationskraft schliesslich gänzlich verlieren.

Am Ende der Vegetationsperiode können die Knöllchen sich auf zwei Weisen verhalten: Entweder verlieren sie durch normale Entleerung ihren Eiweissvorrath, oder sie fallen durch Bacterienüberwucherung der Erschöpfung anheim. Im ersteren Falle werden die gesammten, zu Bacteroiden umgebildeten Bacterien entleert und deren Eiweiss kommt der Pflanze zu Nutzen; im zweiten Falle bleiben mehr oder weniger Bacterien innerhalb der Zellen wachsthumsfähig und finden nachher in den Knöllchen Heerde zu ihrer Erhaltung und Vermehrung.

Sobald die normale Entleerung anfängt, ist es gewöhnlich nicht mehr möglich, aus den Knöllchen, selbst nicht aus den Meristemen, Bacterien zu züchten. Bei der Bacterienerschöpfung dagegen ist dieses immer sehr leicht.

Normale Entleerung und Bacterienerschöpfung sind nicht immer scharf getrennt.

Soviel zur Einleitung und nun zur Sache.

1. Stellung an der Tragwurzel und Structur der Knöllchen.

Als metamorphosirte Wurzelorgane sind die Knöllchen an den Tragwurzeln im Allgemeinen, allein ohne strenge Regel, in den Seitenwurzelreihen angeordnet. Sehr auffallend ist deren gewöhnliche Stellung an der Basis der Seitenwurzeln (*sw* Fig. 1). Die Infectionstheorie erklärt dieses leicht. Die Spalten in der primären Rinde, welche bei der Seitenwurzelbildung entstehen, sind nämlich die eigentlichen Eingangspforten für *Bacillus Radicicola*, welcher von daraus die nächsten rhizogenen Zellen inficirt.

Eben wie die Initialen für die primäre Seitenwurzelbildung, selbst bei der nämlichen Pflanze verschieden sein können, so ist es für die Knöllchen: Je näher der Spitze der Tragwurzel, desto mehr sind die Rindenzellschichten ausserhalb des Pericambiums befähigt, sich an der Neubildung zu betheiligen; fern vom Vegetationspunkte fungiert nur das Pericambium allein. Die Knöllchen entstehen ausnahmslos erst später wie die nächsten Seitenwurzeln, ja, nicht selten an einem ziemlich alten Theile der Tragwurzel, sofern diese noch frische Wurzelhaare trägt.

Viele Knöllchen besitzen zwei oder mehr Vegetationspunkte und zeigen in diesem Falle eine mehr oder weniger tiefe, handförmige Spaltung, was deren Auffassung als Wurzelbündel, den handförmigen Orchideenknollen vergleichbar, nahelegt. Sehr schön ist dieses Verhalten in der Gattung *Medicago* ausgebildet, fehlt übrigens nur bei den Papilionaceen mit meristemfreien Knöllchen (*Lupinus, Phaseolus, Lotus*).

Ein eigentliches Wurzelhäubchen fehlt den Knöllchen; die dauernde primäre Rinde (*pr* Fig. 2) überzieht das umfangreiche Meristem (*ms* Fig. 3) des Vegetationspunktes oder bei fehlendem Meristeme die organische Spitze continuirlich, und hüllt übrigens den mächtigen primären Centralcylinder ein, woran es vermittelst einer

theilweise verdickten Endodermis stösst. An der Oberfläche des Centralcylinders liegt die Zone des »hyalinen Gewebes« (*hg* Fig. 2 u. 3), dessen äussere Zellschichten offenbar dem Pericambium normaler Wurzeln entsprechen, und worin, weiter nach innen die characteristischen »Gefässbündelchen«, genauer gesagt die »secundären Centralcylinderchen« liegen. Jedes der letzteren entspricht dem Centralcylinder einer sehr einfach gebauten, monarchen oder diarchen Wurzel und besteht von aussen nach innen aus einer Endodermis[1] (*se* Fig. 4), einer Pericambiumschicht, einem oder zwei (*Robinia Pseud-Acacia*) Xylembündelchen (*xl* Fig. 2, 3, 4) und einem oder zweien, mehr oder weniger deutlichen Phloembündelchen (*ph* Fig. 4). Wenn nur ein Xylembündelchen vorkommt[2], was der gewöhnliche Fall ist, so liegt dieses nach aussen, das Phloëm nach innen in Bezug auf den Radius des ganzen Knöllchens[3]. Wenn zwei Xylembündel vorkommen, so liegen diese tangential in Bezug auf das Knöllchen. Innerhalb des hyalinen Gewebes und der secundären Centralcylinderchen liegt das Bacteroidengewebe.

Successive Querschnitte zeigen eine Vermehrung durch Verzweigung der secundären Cylinderchen von dem Nabel nach der Spitze der Knöllchen. So gehen bei *Cytisus Laburnum* nur zwei Bündelchen aus der Mutterwurzel in das Knöllchen hinein, welche in der Mitte z. B. zu sieben anwachsen. Bei *Vicia sativa* (Fig. 1) treten 5 Stränge hinein (Fig. 2 *a*), welche durch Verzweigung (Fig. 2 *b, c, d*) auf 10, ja auf 13 steigen. In Längsschnitten (Fig. 3) findet man leicht das blinde Ende der Cylinderchen (*xl*) in der Nähe der organischen Spitze, oder wenn vorhanden, des Vegetationspunktes des Knöllchens. Die Rinde besteht bei den holzigen Arten aus dünnwandigen, bei den Kräutern gewöhnlich aus mehr dickwandigen, etwa collenchymatischen Zellen (*Vicia, Faba, Lupinus*). Legt man die Knöllchen in eine wässerige Methylenblaulösung unter die Luftpumpe, so ergiebt sich die Rinde, bei nachheriger mikroskopischer Untersuchung, als nur in den 3 oder 4 äusseren Korkzellschichten gefärbt, übrigens als vollständig unwegsam für die Lösung. Auch eine langsame Diffusion der Lösung findet darin nicht statt. Die mikroskopisch kaum auffindbaren Intercellularräume können deshalb nicht als Zutrittswege für Bacterien aus dem Boden angesehen werden. Schon diese Beobachtung beweist, dass die aus den Knöllchen gezüchteten Bacterien nicht aus den Intercellularräumen herrühren können.

Das hyaline Gewebe (*hg* Fig. 2, 3) ist kleinzellig und nach Innen, wo es an das Bacteroidengewebe (*bact*) grenzt, mit zahlreichen Intercellularräumen versehen. Je nachdem ein Theil des hyalinen Gewebes als Meristem fortfungirt (gewöhnlicher Fall) oder gänzlich zu Leitgewebe wird (*Phaseolus, Lupinus, Cytisus*), kann man die Papilionaceenknöllchen in zwei, übrigens nicht scharf getrennte Rubriken eintheilen: meristemführende und meristemfreie. Nur in den ersteren findet man die eigenthümlichen »Schleim-« oder »Kerntonnenfäden« gut entwickelt.

Alle Gewebe und Gewebesysteme der Knöllchen sind scharf voneinander abgegrenzt und sehr vollkommen individualisirt.

Diese Beschreibung lehrt uns in den Knöllchen Organe kennen, von einem im Pflanzenreiche beinahe einzig dastehenden Baue, welcher nur in gewissen

---

[1]) Diese kann jedoch fehlen (*Lupinus, Phaseolus, Ornithopus*).
[2]) *Ophioglossum*-Typus.
[3]) Also in (*Cycadeen*-Lage).

Cynipidengallen ein entferntes Analogon findet. Jedoch ist die Structur der letzteren nur auf Nahrungszufuhr eingerichtet, während die ersteren in ihrer complicirteren Organisation offenbar eine Einrichtung besitzen, welche auch eine Entleerung behufs der Mutterpflanze ermöglicht.

Die Knöllchen der Erlen, Myricaceen und Eleagnaceen geben uns den Schlüssel zur Erklärung des morphologischen Aufbaues der Papilionaceenknöllchen, das heisst, sie zeigen uns den wahrscheinlichen phylogenetischen Bildungsgang der letzteren. Dass das ganze komplexe Gebilde bei der Erle ein durch Dichotomie verzweigtes Wurzelsystem ist, ist auf den ersten Blick deutlich. Querschnitte der letzten Verzweigungen dieses Systems zeigen einen einzigen oder mehrere zerstreute Centralzylinderchen im parenchymatischen Grundgewebe. Jedes dieser Centralcylinderchen ist gewöhnlich vierzählig, wie die dünneren Erlenwurzeln im Allgemeinen[1]), so, dass Knöllchen mit mehreren, zerstreuten Centralcylinderchen sich unzweideutig als Wurzelbündel ergeben.

Bei den Papilionaceen entspricht jedes Knöllchen in ähnlicher Weise einem Wurzelbündel; — die mehr oder weniger *(Cytisus)* regelmässige, cylindrische Anordnung der secundären Centralcylinder — deren Rückschritt zum ein- oder zweistrahligen Bau — die Ausbildung einer gemeinsamen Endodermis, d. h. eines primären Centralcylinders, — die Differenzirung des letzteren in hyalines und Bacteroiden-Gewebe, — alle diese sind neu hinzugekommene Charactere, deren stufenweise Entstehung man innerhalb der Familie der Papilionaceen leicht verfolgen kann. Das vielfache Vorkommen einer Verzweigung an der Spitze der Knöllchen, worauf oben schon hingedeutet wurde, ist im Einklange mit der hier gegebenen Auffassung. Uebrigens dürfte die anatomische Untersuchung der Knöllchen in den verschiedenen Verwandtschaftskreisen der Leguminosen, — was auch in systematischer Beziehung eine interessante Aufgabe wäre, — der hier vertretenen Ansicht neue Stützen verleihen[2]).

2. Schicksale der Knöllchen. Entleerungserscheinungen.

Die bacteriologischen Ergebnisse der Gewebeuntersuchung der Knöllchen können sehr verschieden ausfallen. Alle Umstände, welche dabei in Betracht kommen, sind mir sicher noch nicht bekannt, denn manche meiner Beobachtungen konnte ich nicht gänzlich erklären. Jedenfalls beruht die Hauptursache der grossen Verschiedenheiten in den Culturen auf dem Umstand, daß die in die Wurzeln hineingedrungenen Bacterien ihre Vegetationskraft mehr oder weniger vollständig verlieren können. Eine ähnliche, wenn nicht identische Schwächungserscheinung ist schon von mehreren Bacteriologen für die in thierischen Geweben eingeschlossenen

[1]) Nur die sehr dicken fleischigen Erlenwurzeln sind zweistrahlig.

[2]) Nachträgliche Bemerkung. Im August d. Jahres sandte mein Freund Hugo de Vries mir aus Hilversum Wurzeln von *Melampyrum pratense* mit der Bemerkung, er glaube, in deren Knöllchen Bacterien zu erkennen. Nachdem ich mich von der Richtigkeit dieser Beobachtung überzeugt hatte, untersuchte ich die Knöllchen von *Rhinanthus minor* und fand in den geschlossenen Gewebezellen derselben lebende Bacterien und sehr kleine Bacteroiden. Die anatomische Structur der Knöllchen ist identisch mit derjenigen der Papilionaceenknöllchen und selbst die »Schleimfäden« fehlen darin nicht.

Bacterien erkannt, und hat jüngst die Aufmerksamkeit auf sich gezogen durch Flügge's Beobachtung[1]), dass die Vaccins eine graduelle Abstufung ihrer allgemeinen Vegetationskraft zeigen, parallel dem Grade ihrer verminderten Virulenz.

In unserem Falle kommen dazu neue Complicationen infolge der sehr verschiedenen Vorgänge, welche sich in den Knöllchen, besonders bei der Erschöpfung, ereignen können. In den folgenden kurzen Sätzen gebe ich die hauptsächlichsten mir bekannt gewordenen Anhaltspunkte für die Beurtheilung der Versuchsresultate.

Erstens — Die Knöllchen durchlaufen zwei Phasen, die der Entwicklung und die der Erschöpfung;

Zweitens — Bei der Entwicklung werden die in die Zellen eingedrungenen Bacterien mehr oder weniger vollständig durch das Protoplasma eingeschlossen, verlieren dabei allmählich ihre Vegetationskraft und verändern sich schliesslich in die Bacteroiden, welche wachsthumsunfähig sind. Die nicht vom Cytoplasma eingeschlossenen Bacterien bleiben dagegen wachsthumsfähig;

Drittens — Die Erschöpfung kann auf zweierlei Weise stattfinden: Dieselbe beruht entweder auf einem normalen Entleerungsvorgang durch die Pflanze, oder auf einer Bacterienüberwucherung. Bei der normalen Entleerung lassen die Bacteroiden nur eigenthümliche, stark lichtbrechende, bacteroidenförmig gebliebene Reste, oder mikrosomenförmige Körperchen zurück, welche aber eben wie die Bacteroiden selbst wachsthumsunfähig sind. Bei der Bacterienerschöpfung dagegen entstehen innerhalb der Zellen, neben zahllosen, leicht zu cultivirenden Individuen von *Bacillus Radicicola*, die wachsthumsunfähigen Bläschenbacteroiden;

Viertens — Die Entwicklung der Knöllchen kann in allen Stadien aufhören, sie kommen dabei in einen Ruhezustand oder fallen der Erschöpfung anheim.

Ich glaube, dass diese Uebersicht, — an sich die Frucht meiner Culturversuche, — das Verständnis der letzteren für meine Leser erleichtern wird.

3. Das Bacteroidengewebe und die Bacteroiden.

Die Bacteroiden sind geformte Eiweisskörperchen, welche die Pflanze zum Zwecke localer Eiweissanhäufung aus *Bacillus Radicicola* züchtet, — also Organe des pflanzlichen Protoplasmas, entstanden aus eingewanderten Bacterien. Mikroreactionen, namentlich Farbmitteln gegenüber, verhalten sich die Bacteroiden wie *Bacillus Radicicola*, färben sich jedoch nicht intensiv, was auf die Gegenwart nicht färbbarer Substanzen im Bacteroidenkörper hindeutet.

Die Form der Bacteroiden ist sehr verschieden. Drei Typen lassen sich dabei unterscheiden: Erstens, die gewöhnlichen, zwei- oder mehrarmig verzweigten Bacteroiden (*Vicia* Fig. 9, *Pisum* Fig. 12, *Lathyrus* Fig. 15, 16); Zweitens, die bacterienförmigen (*Phaseolus, Ornithopus, Lotus*) und Drittens, die birnen- oder kugelförmigen (*Trifolium* Fig. 10).

Während man kaum in irgend einer Zelle der Knöllchen die Bacteroiden vermisst, ja dieselben sogar in Rinde und Epidermis normaler Wurzeln auffinden kann, so muss doch nur das Innere des Centralcylinders der Knöllchen, also die Hauptmasse

---

[1]) Smirnow, Zeitschr. für Hygiene, Bd. 4, Hft. 2, S. 260, 1888.

der letzteren, als das eigentliche Bacteroidengewebe (*bact* Fig. 2, 3) betrachtet werden.

Die Zellen dieses Gewebes sind gross, deren Inhalt ist trübkörnig, im Wasser der Präparate durch das Austreten der Bacteroiden sich staubig vertheilend. Die Zellwände sind äusserst dünn und zart, sie fallen nach der Entleerung gänzlich zusammen, sodass dann der Raum des Bacteroidengewebes als eine leere Höhlung innerhalb der Knöllchenrinde zurückbleibt.

Die Farbe, die Consistenz, die Natur des Zellinhaltes ist sehr verschieden, je nach dem Entwicklungs- und Entleerungszustande und der mehr oder weniger normalen Ausbildung der Knöllchen. Normal nenne ich die Ausbildung, wenn im erwachsenen Knöllchen durchaus keine wachsthumsfähigen Bacterien vorkommen, oder wenn diese nur auf das Meristem beschränkt bleiben.

In frischen, eben erwachsenen, normalen Knöllchen enthalten die Zellen eine geräumige, oft kuglige Vacuole (Fig. 5, 7). In der dicken Cytoplasmaschicht liegen die Bacteroiden, — wenn zweiarmig, in sehr regelmässiger, netzförmiger Anordnung (Fig. 8). Bei Anwendung der so eleganten Methode der Plasmolyse zieht sich das Protoplasma mit den sämmtlichen Bacteroiden von der Wand zurück; nur in vereinzelten Fällen sieht man die Bacteroiden dabei austreten und Vacuolen oder Hüllflüssigkeit trüben. Der Zellkern ist gross, das längliche Kernkörperchen liegt in einer Kernvacuole; das Chromatinnetz ist scharf ausgeprägt (Fig. 7). Selten liegen zwei Kerne in einer Zelle, noch seltener überhaupt keine.

Characteristische Körper des Zellinhaltes des Bacteroidengewebes sind die viel besprochenen »Schleimfäden« (*schl* Fig. 5, 6, 7). Diese Fäden verbinden die Kerne angrenzender Zellen, was bei Kernfärbung besonders deutlich wird (Fig. 7), und laufen wie selbständige Organismen (Fig. 5, 6) quer durch ganze Zellreihen, die Zellwände senkrecht durchbohrend. Bei der Plasmolyse ziehen sie sich nicht mit dem Protoplasma von der Wand zurück, wodurch ausserordentlich fremdartige Präparate entstehen. Die Fäden sind Ueberbleibsel der Kerntonnen, welche nach beendigter Zelltheilung nicht vollständig zu dem Cytoplasma und dem Kerne zurückwandern; dieser Ursprung erklärt das eigenthümliche Verhalten derselben in Bezug auf die Zellwand. Der Hauptmasse nach bestehen die Schleimfäden aus Chromatinsubstanz, zum geringeren Theile aus nicht färbbarem Kern- und Cytoplasma; selten ist daran eine Cellulosewand bemerkbar. Nur in meristemfreien Knöllchen, z. B. bei *Lupinus*, fehlen sie.

Bisweilen, nämlich beim abnormen Ueberhandnehmen der Bacterien, werden Kern und Cytoplasma insgesamt durch die schleimige Degeneration ergriffen (Fig. 6, die Zellen auf der linken Seite). Knöllchen, worin dieses stattfindet, bleiben sehr klein und ragen kaum aus der Wurzelrinde hervor und in deren Zellen sieht man leicht zahlreiche schwärmende Bacterien und Bläschenbacteroiden.

Transitorische Stärke findet man in den Knöllchen, so weit diese ein gesondertes Meristem besitzen, in einer Querschicht des Bacteroidengewebes diesem Meristeme ganz nahe, — so weit ein Meristem fehlt, mehr diffus im Bacteroidengewebe vertheilt (*Lotus*, *Ornithopus*). Die kleinen runden Stärkekörnchen wachsen gewöhnlich zu zwei, drei oder mehreren zusammen (*am* Fig. 7). Dieselben sind so ausserordentlich fragil, dass man in den Schnittpräparaten gewöhnlich nur scharfkantige Stückchen derselben findet.

An der Oberfläche des Bacteroidengewebes und in der Rinde der Knöllchen von *Robinia, Phaseolus* und *Lupinus* fand ich sehr eigenthümliche, vierseitig-prismatische Stäbchen unbekannter Natur, welche als Balken die Zellen quer von Wand zu Wand durchsetzen.

Ich will ferner noch erwähnen, dass ich im alten, erschöpften, jedoch nicht todten Gewebe des vorjährigen Theiles der *Robinia*knöllchen eine schwarze Masse auffand, welche wahrscheinlich analog ist mit dem Farbkörper des saftgrünen Cytoplasmas, das in vielen Zellen des entleerten Bacteroidengewebes bei Kräutern vorkommt *(Faba, Lathyrus)*, und welchem dieses anfangs rothe Gewebe später seine grüne Farbe verdankt. Eben wie diese Stoffe bedürfen die sehr sonderbaren braunen Körper vieler alten Bacteroidenzellen von *Lathyrus tuberosus* noch einer näheren Untersuchung.

Kehren wir nach dieser Betrachtung der accessoren Inhaltskörper des Bacteroidengewebes zu den Bacteroiden selbst zurück.

In Bezug auf die Entleerung und das Schicksal, dem sie schliesslich anheimfallen, lassen sich drei verschiedene Bacteroidenformen ziemlich scharf von einander unterscheiden, nämlich die normalen, die Hemmungsbacteroiden und die Bläschenbacteroiden.

Die ersteren werden in dem typischen Bacteroidengewebe angetroffen, deren Entleerung eben auf der Entleerung der normalen Bacteroiden beruht. Das schöne, hyaline, turgescente Aussehen verdanken die letzteren dabei dem Eiweissvorrath, welchen sie später an die Nährpflanze abgeben.

Die »Hemmungsbacteroiden« kommen ausserhalb des Bacteroidengewebes in beinahe allen übrigen Zellen der Knöllchen *(rb* und *kb* Fig. 8) und ausserdem nicht selten in der normalen Wurzelrinde *(rb)* und besonders in der Rinde des Wurzelkernes *(wk* Fig. 3) vor [1]).

Einmal fand ich solche Bacteroiden in einem Callus, welcher im Innern der Stengelhöhlung eines Stockes von *Vicia Faba* entstanden war, infolge der Verwundung und des Einspritzens von Wurzelbacillen mit einer P r a v a t z'schen Spritze in das junge Stengelgewebe; später suchte ich in ähnlichen Präparaten stets vergebens darnach. Dann und wann findet man dieselben in der Wurzelrinde allerlei verschiedener Pflanzen (auch nicht Papilionaceen), so dass dem *Bacillus Radicicola* offenbar eine sehr allgemeine Neigung innewohnt, in die verschiedenartigsten Pflanzentheile hineinzuwandern.

Die Form der Hemmungsbacteroiden ist zweiarmig, wie bei den normalen; sie sind aber viel kleiner, fester, schärfer contourirt, weniger hyalin. Als functionslose Körperchen gehen sie mit den Zellen zu Grunde, sie zeigen grosse Uebereinstimmung mit einem gewissen Stadium in Entleerung begriffener normaler Bacteroiden.

Die dritte Form, die der »Bläschenbacteroiden« (Fig. 9 *b*, 10 *a*, 11 *a*, 12 *c*), entsteht durch »Bacterienerschöpfung«, das heisst infolge einer innerhalb der Zelle stattfindenden abnormen Vermehrung von *Bacillus Radicicola*. Die sehr characteristischen Einschlüsse (die secundären Bläschen *sb)*, welche dabei entstehen, rechtfertigen den gewählten Namen. Bei Erbsenwurzelbacillen (Fig. 12), sowie bei denjenigen von

[1]) Ich nenne »Wurzelkern« den in der Rinde der Mutterwurzel sitzenden Theil der Seitenwurzelbasis. Das Wort und der Begriff entsprechen R. H a r t i g's »Knospenkerne«.

Phaseolus vulgaris fand ich Bläschenbacteroiden in den Colonien auf Fleischwasserpeptongelatine.

Auf manche, in diesem Paragraphen nur kurz berührte Punkte kommen wir unten noch zurück.

4. Die Knöllchen entstehen infolge einer Infection.

In sterilisirtem Boden entstehen die Knöllchen nicht. Ich benutzte, um dieses zu beweisen, eine blecheiserne geschlossene Dose, welche im Heerde eines Dampfkessels stark erhitzt wurde. Kleine Papilionaceen wie *Vicia hirsuta* und *Lathyrus Aphaca* konnten sich darin frei bewurzeln und beim Feuchthalten mit gekochtem Grabenwasser brachten die Pflanzen Blüthen und Samen ohne Spur von Knöllchen. Frank ist schon im Jahre 1879 zu dem nämlichen Resultate gekommen [1]).

Meine knöllchenfreien Pflanzen hatten ein vollkommen normales Aussehen, und Frank erwähnt neuerdings [2]), dass gelbe Lupinen in sterilisirtem Boden ohne Knöllchen sogar kräftiger und höher auswachsen, wie Knöllchen-tragende Stöcke in gewöhnlicher Erde; er schreibt dieses der günstigen chemischen Veränderung zu, welche der Boden durch Erhitzen erfährt. Ich will hier noch hinzufügen, dass schon ein kurzes Kochen des Bodens hinreichend ist, um die Knöllchenbildung zu verhindern; die dabei nicht getödteten Sporen-erzeugenden Bodenbacillen sind also ohne Bedeutung für diesen Vorgang.

Aus diesen Angaben kann man schliessen, dass die Knöllchen infolge einer Infection entstehen und zwar durch einen Organismus, welcher schon bei Kochhitze stirbt.

Der überall im Boden gegenwärtige *Bacillus Radicicola*, welcher bei meinen Culturen aus allen genau untersuchten Knöllchen mehr oder weniger massenhaft erhalten wurde, der keine Sporen bildet und im Wasser unterhalb 100° C. stirbt, ist der dabei wirksame Infectionsstoff.

Es wird nun erklärlich, weshalb man in manchen Papilionaceensaaten einzelne Individuen ohne Knöllchen antreffen kann. Dieselben sind offenbar in Bodentheilen gewurzelt, welche durch irgend eine Ursache bacterienfrei waren. Die Thatsache, dass die Zeit des ersten Sichtbarwerdens der Knöllchen bei den jungen Pflanzen sehr verschieden sein kann, dürfte auf zeitlicher Abwesenheit der Bacillen beruhen.

Merkwürdiger ist der Umstand, dass individuelle Eigenthümlichkeiten der Nährpflanze die Knöllchenbildung verhindern können. So sah ich bei zwei, im Juli 1887 in meinem Garten ausgesäten Varietäten von *Ervum Ervilia* nur eine oder zwei jeder zehn Pflanzen Knöllchen erzeugen, während viel dichter beisammen und theilweise mit *Ervilia* gemischt wachsende *Vicia-* und *Lathyrus*arten ausnahmslos Knöllchen trugen. Hier konnte daher die Erscheinung nicht auf localer Sterilität des Bodens beruhen. Wahrscheinlich ergiessen die Papilionaceenwurzeln gewisse Stoffe in den Boden, welche *Bacillus Radicicola* anlocken, und bei, in dem genannten Falle aus-

[1]) Ueber die Parasiten der Wurzelanschwellung der Papilionaceen. Bot. Ztg. 1879, S. 382.

[2]) Ernährung der Pflanzen mit Stickstoff. Berlin 1888, S. 101.

bleibender, Knöllchenbildung dürfte diese Absonderung eine abnorme gewesen sein oder gänzlich gefehlt haben [1]).

Schliesslich muss ich hier noch den bekannten Umstand erwähnen, dass in humusreichem Boden überhaupt keine oder nur sehr wenige Knöllchen entstehen. So fand ich letzten Sommer in einem Beete auf reichem Gartenboden, welches im Jahre 1885 mit Grabenschlamm überdeckt war, bei den folgenden Arten beinahe jedes Individuum knöllchenfrei: *Vicia Narbonensis, V. Pseudo-Cracca, Lotus corniculatus, Ervum Ervilia, E. Lens, Medicago media* und junge Exemplare von *Robinia Pseud-Acacia*. Nur diejenigen Wurzeltheile, welche die Humusschicht durchbohrt hatten, trugen einzelne Knöllchen. — Diese Erscheinung dürfte darauf beruhen, dass der Humusboden, worin *Bacillus Radicicola* allgemein genug vorkommt, um die Wurzeln zu inficiren, Stoffe enthält, welche diese Bacterie ebenso stark anlocken, wie die Papilionaceenwurzeln und daher die Infection vorbeugen. Die grosse Anziehung, welche allerlei in Wasser gestellte Pflanzentheile auf *Bacillus Radicicola* ausüben, veranlasst mich zu dieser Annahme.

Dass die Knöllchen an den Wurzeln von in Nährlösung cultivirten Papilionaceen gewöhnlich fehlen, beruht wohl auf dem Umstand, dass solche Nährlösungen, wegen Mangel an gelösten organischen Substanzen das Wachsthum von *Bacillus Radicicola* ausschliessen, oder nur in der unmittelbaren Nachbarschaft der Wurzeln ermöglichen.

5. Cultur des Bacillus Radicicola aus den Knöllchen.

Ehe ich zur Besprechung der bacteriologischen Eigenschaften der Knöllchen übergehe, einige Worte über die Culturbedingungen, welche diese Untersuchung erfordert.

Ich schicke voraus, dass *Bacillus Radicicola* Aerobie ist, obschon das Optimum der Sauerstoffspannung bei übrigens günstigen Ernährungsbedingungen etwas geringer sein dürfte, wie die atmosphärische. Ich konnte daher bei meinen Culturen das Koch'sche Plattenverfahren anwenden. Meine Culturplatte ist dabei der Boden einer Glasdose mit aufgeschliffenem Deckel. Die Gelatine wird direct in die Dose gegossen, entweder nachdem die nach sorgsamer Sterilisation der Rinde auf gereinigten Glasplatten zerriebenen Knöllchen, oder Stücke davon, damit schon gemischt sind, oder unvermischt, sodass das Untersuchungsmaterial in Wasser aufgeschüttelt über die erstarrte Gelatine ausgebreitet werden kann, oder endlich, es werden auf die Schicht der unvermischten Gelatine Impfstriche von dem Inhalte der Knöllchen gezogen. Da die schwächeren Vegetations-Formen von *Bacillus Radicicola* innerhalb der Gelatine sehr schlecht wachsen, ist die Cultur auf der Oberfläche vorzuziehen; bei sorgfältiger Versuchsanstellung geben die Impfstriche am schnellsten gleichförmige Resultate. Wenn man *Bacillus Radicicola* noch nicht kennt, ist es nothwendig von den Colonien auszugehen, wozu man am besten die mit Alkohol gewaschenen und abgebrannten Knöllchen in Wasser zerreibt und vertheilt und letzteres dann auf die Platte ausgiesst. Unter den zahllosen *Radicicola*-Colonien erkennt man bald die einzelnen Verunreinigungen.

[1]) Ich finde neuerdings, dass keimende Papilionaceensamen, zwischen die *Radicicola*-Colonien auf Gelatineplatten gebracht, das Wachsthum dieser Colonien sehr fördern.

Fleischwasserpeptongelatine ist für die ersten Culturen des Wurzelbacillus zu concentrirt. Zwar findet darauf bisweilen Wachsthum statt, allein dieses ist so äusserst langsam, dass dieser Nährboden verworfen werden muss, wenn es sich nicht handelt um Culturen, welche aufbewahrt werden sollen, und auch dann noch ist diese Gelatine nur für bestimmte Formen und nach geeigneten Vorversuchen anwendbar. Ein schnelles Wachsthum der activen Formen findet nur statt auf armen Nährböden, z. B. dem Absud von Papilionaceenblättern mit 7% Gelatine; förderlich ist dabei jedoch ¼% Asparagin- und wenn die Blätter zuckerarm sind, auch ½% Rohrzucker-Beigabe.

Ich konnte nicht bemerken, dass der Decoct der Nährpflanze gedeihlicher für die aus der letzteren gewonnenen Bacterien ist, wie derjenige aus anderen Papilionaceenarten und befand mich, mit allerlei erprobten Mischungen, schliesslich am besten bei Erbsenstengel- oder Fabastengeldecoct mit 7% Gelatine. Immer, aber besonders bei Agarverwendung oder bei den Culturen in Nährlösung ist ¼% Asparagin, wie gesagt, nützlich. Die weniger activen Formen, deren Vegetationskraft abgeschwächt ist, lassen sich durch kräftige Ernährung durchaus nicht treiben [1]), — vielmehr werden sie dadurch zurückgesetzt; besonders in Nährlösung gestattet bei derartigen Culturen nur eine geringe Concentration ein merkliches Wachsthum.

Die Nährlösungen dürfen nicht stark sauer reagiren, schon 2 oder 3 ccm Normalsäure auf 100 ccm schliesst die Entwicklung aus. Selbst Cohn'sche Nährlösung ist für *B. Radicicola* zu sauer. Alkalische und neutrale Reaction sind jedoch auch schädlich, und ich finde für *Bac. Rad.* aus *Trifolium repens* das Wachsthumsoptimum bei 0,6 ccm normaler Aepfelsäure auf 100 ccm Nährlösung. Zimmertemperatur ist für die Entwicklung am geeignetsten, oberhalb 47° steht das Wachsthum stille, ist dagegen zwischen 0° und 10° C. noch ziemlich energisch.

Die Cultur in Glasdosen giebt ein einfaches Mittel an die Hand um Niederschlagsbildung aus Wasserdunst vollständig auszuschliessen, was bei derartigen Culturen, wo die Colonien erst nach fünf, ja zehn Tagen sichtbar werden, sowie bei Agarculturen innerhalb der Thermostaten, nicht unwichtig ist. Ich lege zu diesem Zwecke meine Glasdosen, die Gelatineschicht nach oben, den aufgeschliffenen Glasdeckel nach unten auf irgend eine Fläche, wovon ich sicher weiss, dass die Temperatur immer etwas höher ist, wie diejenige des Raumes, worin die Gelatinseite der Dose hinausragt (Fig. 17). Der Erfolg ist vorzüglich: Wochenlang kein Tropfen Wasser, kein merkbares Austrocknen [2]).

Nur in wenigen Fällen, nämlich bei *Phaseolus*, *Ornithopus* und *Lotus* konnte ich mich erst nach vielen vergeblichen Versuchen, wobei überhaupt kein Bacterienwachsthum eintrat, überzeugen, dass auch dabei die gewöhnlichen Wurzelbacillen die Knöllchen bewohnen und die, in diesen Fällen so gänzlich bacterienähnlichen Bacteroiden erzeugen. Die Ursache der hier begegneten Schwierigkeit war die mir anfangs unbekannte Abwesenheit des Meristems in den erwachsenen Knöllchen; seitdem ich sehr junge Knöllchen dieser Pflanzen für die Culturen verwendet habe, sind die Colonien in Unzahl entstanden. Zwar sind dieselben bei ersten Culturen aus den Knöll-

[1]) Einige Male sah ich unter den Aussaaten abgeschwächter Formen durch späteren Asparaginzusatz vereinzelte Colonien, wie aus der Lethargie erweckt, activ werden und schnell heranwachsen.

[2]) Ich lasse dazu in meinem Laboratorium immerfort eine kleine Flamme brennen unterhalb eines dicken, schiefernen Tisches.

chen äusserst klein, und auf der Gelatine nur mühsam aufzufinden, ist jedoch einmal der Wachsthumswiderstand überwunden, — was bei successiven Culturen bisweilen von selbst eintritt, — so findet ein üppiges Wachsthum statt, selbst auf Fleischwasserpeptongelatine.

Durch die Cultur der Knöllchenbacterien aus ziemlich vielen Papilionaceen überzeugte ich mich, dass es sich dabei nur um eine Bacterienspecies handelt, was ich durch den gewählten Namen zum Ausdrucke gebracht habe.

Hier muss ich jedoch hervorheben, dass die aus verschiedenen Papilionaceenarten cultivirten Bacterien zwar sehr ähnlich, jedoch nicht immer völlig identisch sind. Dieses ist besonders auffallend bei der ersten Cultur auf Gelatine, von dem den Knöllchen direct entlehnten Materiale. Es ist wahrscheinlich, dass es sich bei dieser Verschiedenartigkeit des Culturresultates nur um Einflüsse handelt, welche den Bacterien durch die Nährpflanze aufgeprägt werden; die Erblichkeit der beobachteten Differenzen lässt es jedoch als nothwendig erscheinen, die verschiedene Herkunft durch Varietätsnamen zu bezeichnen. Bei gewissen Formen kann die Verschiedenheit sehr deutlich werden, in anderen Fällen dagegen ist dieselbe kaum wahrnehmbar. So ist ein entschiedener Gegensatz bemerkbar zwischen den Bacterien von *Vicia, Ervum, Trifolium* einerseits, verglichen mit denen von *Lotus, Ornithopus, Phaseolus* anderseits, während die Bacillen der drei ersten Gattungen unter sich eben so schwierig zu unterscheiden sind wie die der drei letzten. Dass es sich dabei nicht um specifische Differenzen im gewöhnlichen Sinne des Wortes handeln kann, wird durch folgenden Umstand, welcher meine Ueberzeugung der Arteinheit beeinflusst hat, nahe gelegt.

Während die Gelatineculturen, welche von einem gewissen Knöllchen erhalten werden *(Cytisus, Lupinus, Ornithopus, Robinia, Lotus, Caragana, Phaseolus)* aus gleichförmigen, nur durch Vegetationskraft verschiedenen Colonien von *Bacillus Radicicola* bestehen, werden in anderen Fällen *(Vicia, Ervum, Trifolium, Pisum)* nicht nur in der Wachsthumsintensität, sondern auch in den Formbestandtheilen (Stäbchen und Schwärmer) der Colonien Verschiedenheiten bemerkt, so dass bei einer vollständigen Untersuchung eines solchen Knöllchens eine Reihe von deutlich unterscheidbaren Colonien zu Tage treten kann, allein, diejenigen unter diesen Colonien mit maximaler Vegetationskraft sind beinahe in jeder Hinsicht identisch mit activen Colonien der *Lupinus-* und *Cytisus*gruppe. Mir wollte es wenigstens nicht gelingen, etwa existirende Differenzen dazwischen allenfalls durch erkennbare Diagnosen zu umschreiben, und dabei denke ich nicht allein an die Form, sondern an alle in den Culturen zur Beobachtung gekommenen Eigenschaften.

Einerseits also Verschiedenheit zwischen diesen, einem und demselben Knöllchen entstammenden, anderseits Uebereinstimmung der activeren aus verschiedenartigen Knöllchen herkommenden Colonien.

Uebrigens sind die Bacterienformen, welche in den aus demselben Knöllchen gezüchteten Colonien vorkommen, sehr enge verwandt und können auch alle in einer und derselben Colonie angetroffen werden, sind jedoch, wie gesagt, in den Rohaussaaten derweise vertheilt, dass verschiedene Colonien durch das Vorherrschen bestimmter Formen ein verschiedenes Gepräge besitzen.

Ein anderes Argument für die Arteinheit ergiebt sich ziemlich zwingend aus den Culturen in Nährlösung, wobei jede in den Colonien bemerkbare Verschiedenheit augenscheinlich gänzlich verschwindet. Letzteres gilt ebensowohl in Bezug auf die

Formen einzelner Papilionaceenknöllchen und verschiedener Knöllchen der nämlichen Art, wie für die Formenreihen verschiedener Papilionaceenarten.

Aus der Grösse der Colonien, das heisst aus deren Vegetationskraft, kann man ziemlich sicher auf die Gestalt der darin vorkommenden Einzelbazillen schliessen: Je grösser die ersteren sind, desto mehr besitzen die Stäbchen und Schwärmer normale Bacterienformen, — je kleiner dagegen, desto mehr werden die Elemente der Colonien den verzweigten Bacteroiden ähnlich.

Die auffallende Thatsache, dass die Veränderung in der Vegetationskraft mit gewissen erblichen Formverschiedenheiten parallel geht, nähert sich dem Verständniss, wenn man überlegt, dass *Bacillus Radicicola* an sich eine sehr polymorphe Art ist, und dass die kleinen Schwärmer, welche in jeder Colonie vorkommen, viel mehr von den Stäbchen abweichen, wie die Stäbchen der verschiedenen Varietäten unter sich. Auch die Entstehung der so sonderbar gebauten Bacteroiden aus unserer Bacterie wird durch diese Betrachtung weniger befremdend [1]).

Die nächste Ursache der Verschiedenheit in den Colonien ist die Länge der Zeit, während welcher die in die Zellen hineingewanderten Bacterien sich in dem Cytoplasma eingeschlossen befanden, und zwar derart, dass je kürzer diese Zeit, desto grösser die Vegetationskraft der Colonien und desto geringer die Differenz in den Formelementen der letzteren, — je länger dagegen der Einschluss gedauert hat, desto schwächer die Vegetationskraft in den Colonien und desto grösser die Annäherung ihrer Elemente an die Bacteroidenform. Ich schliesse dieses aus dem Umstande, dass ich die kräftiger wachsenden Colonien bei *Vicia Faba*, welche ich genauer untersucht habe, mehr aus den sehr jungen Knöllchen und der äusseren Meristemzone der älteren, — die langsamer wachsenden Colonien mit mehr bacteroidenähnlichen Elementen dagegen aus den inneren Zonen des Meristems erhielt. *Lupinus polyphyllus*, welcher bacterienähnliche und gabelige Bacteroiden führt, ergab das nämliche Resultat. Die grossen Schwankungen in der Anzahl der in den Knöllchen wachsthumsfähig gebliebenen Bacterien, vergrössern die Schwierigkeiten bei der hier bezeichneten Versuchsanstellung sehr.

Ehe ich die Besprechung von *Bacillus Radicicola* weiter verfolge, wünsche ich an dieser Stelle die Bemerkung einzuschalten, dass ich in einigen Fällen zwischen den gewöhnlichen Colonien in den Impfstrichen oder anderweitigen Culturen, einige andere Bacterienspecies beobachtet habe, welche ich nicht auf zufällige Verunreinigungen von der Oberfläche aus zurückführen konnte, sondern welche dadurch interessant sind, dass sie innerhalb geschlossener, jedoch todter Zellen der Knöllchen als Saprophyten leben. Alle sind sehr leicht von *B. Radicicola* zu unterscheiden, schon durch die geringe Anzahl ihrer Colonien in den Rohaussaaten, obschon sie mit dem Wurzelbacillus durch Beweglichkeit, Kleinheit, und in Bezug auf die meisten Lebensbedingungen grosse Verwandtschaft verrathen. Darüber nun folgendes.

In den Culturen aus einigen Knöllchen von *Cytisus Laburnum*, *Trifolium pratense* und *Anthyllis Vulneraria* fand ich einen mit *B. Radicicola* verwandten, erst weiss, später gelblich erscheinenden, beweglichen oder ruhenden, Gelatine nicht verflüssigenden, Rohrzucker invertirenden Pigmentbacillus, den ich *Bacillus luteo-albus*

[1]) Die Bacteroidengestalt liegt jedoch dem Bacterienwachsthum überhaupt wohl nicht fern, denn auch andere Arten, wie z. B. *Bacterium phosphorescens*, erzeugen leicht Stäbchen, Coccen, Bläschen und die schönsten zweiarmigen »Bacteroiden«.

genannt habe. Da die Zahl der aufgefundenen Colonien niemals gross war, ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass diese Art nur als Ansiedler in nicht bemerkten Rissen oder Intercellularräumen vorkam.

Letztere Bemerkung gilt ebenfalls in Bezug auf einen aus rothem Klee erhaltenen, beweglichen, schwach schmelzenden, bräunlichen, diplococcus-ähnlichen Fäulnissbacillus, den ich wegen der eigenthümlichen, an diejenige von *Proteus* erinnernden Gestalt der Colonien *Bacillus agglomerans* nenne.

Sicher, wie ich glaube, als Zellinquilinen fand ich in den Knöllchen von *Phaseolus* einen Gelatine nicht verflüssigenden, schnell beweglichen, auf Fleischwasserpeptongelatine schön grün fluorescirenden Bacillus, den ich, obschon mein fluorescirender Bacillus kein Trimethylamin erzeugt, für identisch halte mit *Bacillus fluorescens putidus* (Flügge, Mikroorganismen, 2. Aufl., S. 288, 1886)[1]. Ich habe nämlich zugleich mit *B. fluorescens* eine damit verwandte Art, *Bacillus Trimethylamin*, aus den zerfallenen Gewebezellen der Knöllchen von *Lotus corniculatus* und *Phaseolus vulgaris* isolirt, welcher in Flügge's Culturen den Geruch nach Häringlake verursacht haben dürfte. Während *Bacillus Radicicola* in Cohn'scher Nährlösung nicht wächst, selbst nicht nach Neutralisation, vermehren *B. fluorescens* und *B. Trimethylamin* sich darin reichlich, das heisst, erzeugen Eiweiss auf Kosten von Ammontartrat.

Bei meiner ersten Mittheilung über die Knöllchen[2], führte ich noch eine besondere, die Gelatine schwach verflüssigende, übrigens mit der Normalform nahe verwandte Varietät an, welche in gewissen Knöllchen stellvertretend für *B. Radicicola* vorkommen sollte; ich hatte dieselbe eben wie die Normalform auch aus dem Boden isolirt und *Bac. Radicicola* var. *liquefaciens* genannt. Fortgesetzte Untersuchungen überzeugten mich, dass ein typisches Vorkommen davon innerhalb der lebenden Zellen und im ursächlichen Zusammenhange mit der Knöllchenbildung gänzlich ausgeschlossen ist, sodass auch diese Form nur als saprophytischer Ansiedler betrachtet werden kann.

Kaum brauche ich noch hinzuzufügen, dass der Oberfläche der Knöllchen allerlei Bodenbacterien anhaften können, welche ohne stete Vorsicht leicht in die Culturen gelangen. Reinigt man aber die Knöllchen erst mit Wasser und dann mit Alkohol, welcher in der Flamme schnell abgebrannt wird, so bekommt man in den Impfstrichen beinahe immer Reinculturen der Wurzelbacillen. Es ist wichtig, sich von den Bodenbacillen unabhängig zu machen, denn die Zahl der überall vorkommenden, mit *B. Radicicola* verwandten Arten ist gross, und erkennbare Diagnosen derselben liegen bisher noch nicht vor.

Nach dieser Abschweifung kehre ich zu dem Wurzelbacillus zurück.

---

[1]) Die Bezeichnungen *Bacillus fluorescens putidus*, *Bacillus fluorescens liquefaciens*, nebst vielen ähnlichen von den Medicinern gewählten Artnamen für ihre Mikroben sind nicht in Uebereinstimmung mit den allgemein acceptirten Regeln der botanischen Nomenclatur, wodurch die Entdecker die Gefahr laufen, ihre übrigens so ausgezeichneten Diagnosen einmal auf andere Autoren übergehen zu sehen. Gewöhnliche doppelte Speciesnamen, nach Linné's und de Candolle's Vorschriften gebildet, können auch für die Mikroben angewendet werden, so dass bei einer zukünftigen Classification nur die Worte *Bacillus*, *Micrococcus* etc. durch den nun noch nicht allgemein feststellbaren Genusnamen ersetzt zu werden brauchen, was dann ohne Schädigung der ursprünglichen Autoren stattfinden kann.

[2]) Im Nov. 1887 in der Akad. der Wissenschaften zu Amsterdam.

6. Beschreibung von *Bacillus Radicicola.*

Betrachten wir zunächst die mehr complicirten Verhältnisse von *Vicia, Ervum, Trifolium, Pisum, Medicago, Genista, Melilotus,* wobei sich die Bacterien innerhalb der Knöllchen in sehr sonderbar gestaltete Bacteroiden verändern.

Hier bildet *Bacillus Radicicola* auf *Faba*stengeldecoctgelatine diese nicht verflüssigende, weissliche, hyaline oder trübe, halbkugelige, mehr oder weniger flüssige Colonien von sehr verschiedener Grösse (*kl* Fig. 17)[1]. Die einzeln liegenden Colonien sind gewöhnlich sehr klein, ungefähr ¼ mm im Durchmesser, bleiben jedoch oft noch viel kleiner und können dann erst mit der Lupe gesehen werden. Die grössten Colonien sind wässerig und wenig trübe, die kleineren mehr fest und milchig undurchsichtig, die kleinsten sind meistens Kügelchen, welche sich in einem Stücke von der Gelatine abheben lassen. Berühren mehrere Colonien einander, wie in den Impfstrichen (*kl* Fig. 17), so ändert sich das Wachsthum gänzlich, und es entstehen dann oft bis cm-grosse Tropfen, welche mehr oder weniger flüssig und trübe sind. Dieses geschieht zwar nur dann, wenn — was übrigens sehr oft zutrifft — in den Impfstrichen Stäbchen mit unverminderter Vegetationskraft liegen. Das erhöhte Wachsthum bei Berührung beruht jedoch zum Theile auch auf dem relativ verminderten Sauerstoffzutritt, wodurch die Bacterien im Innern der Masse die ihnen entsprechende Optimalspannung dieses Gases erhalten.

Die grossen, wässerigen Colonien bestehen in allen untersuchten Fällen, sei es, dass dieselben aus dem Boden, aus Knöllchen oder aus Wasser, worin Papilionaceenwurzeln tauchten, herkünftig waren, immer aus derselben Mischung von Stäbchen und Schwärmern. In solchen Colonien findet man fast alles in Bewegung; die äusserst schmalen Stäbchen und Doppelstäbchen suchen den Sauerstoff am Rande des Präparates. Abgesehen von einzelnen sehr langen Gliedern messen die dickeren Stäbchen nahezu 4 μ Länge bei 1 μ Dicke. Die Bacteroiden von *Vicia Faba* sind etwas grösser und messen im Mittel 5 μ Länge bei 1 μ Dicke; das Bild der Wasserculturen der Erbsenbacillen (Fig. 12 *b*) veranschaulicht die betrachtete Colonieform vollständig.

Die Schwärmer, welche in allen Richtungen durch die Präparate fortschiessen, sind ausserordentlich klein, ja, dieselben gehören zu den kleinsten lebenden Wesen, welche bisher beschrieben wurden. Genaue Aufnahmen ergaben für dieselben in den Colonien der *Faba*bacillen (Fig. 9 *c* u. *e*) 0,9 μ Länge bei 0,18 μ Dicke. Die Choleravibrionen messen 1,5 μ bei 0,4 μ, die Bacillen der Mäusesepticaemie 1 μ bei 0,2, die der Schweineseuche 0,6 μ bei 0,2 μ[2]. Unsere Schwärmer sind deshalb noch kleiner als die kleinsten pathogenen Mikroben.

Nach Newton's Angaben ist die Dicke des ersten Newton'schen Farbenringes im äussersten Roth 0,161 μ und im äussersten Violett 0,1015 μ (das Vierfache der entsprechenden Wellenlängen). Wir sehen deshalb, dass die Schwärmer ihrer Grösse nach Löcher, nicht geräumiger als Newton's erster Farbenring passiren können, wenn nämlich ihr Körper ein wenig plastisch ist, was ganz sicher der Fall ist. Diese Betrachtung

[1]) Die Colonien auf Nährgelatine dürften wohl zuerst durch Wigand (Bot. Hefte, Nr. 2, S. 83, Marburg 1887) im Jahre 1885 gesehen worden sein; leider fehlte ihm genügende bacteriologische Erfahrung, um die Wurzelbacillen von den Verunreinigungen zu unterscheiden.

[2]) Diese Zahlen nach Flügge, Mikroorganismen, 2. Aufl.

scheint mir die Nothwendigkeit der Annahme, dass *Bacillus Radicicola* in die geschlossenen Pericambiumzellen der Papilionaceenwurzeln einzudringen vermag, ohne irgend eine Läsion zu verursachen oder vorzufinden, sehr zu erleichtern.

Die Form der Schwärmer, welche natürlich wegen deren Kleinheit schwierig festzustellen ist, scheint gewöhnlich bacteroidenähnlich oder kugelig-dreieckig zu sein; der einzige Geisselfaden sitzt am Hinterende.

Die schnelle Beweglichkeit ist vom Sauerstoffzutritt abhängig; dieselbe kommt in der Engelmann'schen Gaskammer in Kohlensäure oder Wasserstoff beinahe plötzlich zum Stillstande, um bei erneuter Sauerstoffzufuhr wieder zu beginnen. Destillirtes Wasser hebt die Schwärmbewegung nicht auf.

Wie klein die Schwärmer auch seien, so bewegen sie sich doch eben wie die Stäbchen, wie gesagt, sicher, vermittels Schwärmfäden fort. Ich konnte dieses zwar nicht direct beobachten, allein ich sah oft die jedem Mikroskopiker bekannte Erscheinung der Zurückhaltung durch oder die Schwingung an unsichtbaren Fäden, sowie die eigenthümlichen, schlängelnden Bewegungen unorganischer Theilchen, welche durch die Geissel der Schwärmer hin und herbewegt werden.

Die auf der trockenen Gelatineoberfläche liegenden Colonien senden nicht selten einzelne Schwärmer aus, welche in der Nachbarschaft, selbst auf em Abstand, Colonien bilden können. Diese Erscheinung wird auch bei anderen, verwandten Formen, z. B. beim oben genannten *Bacillus Trimethylamin* bemerkt und veranlasst oft die Bildung geradlinig angeordneter Colonienreihen, offenbar dadurch, dass die Anlockung der Schwärmer durch irgend welche Ursache längere Zeit in unveränderter Richtung fortwirkt.

Soweit bezüglich der Colonien mit grösserer Vegetationskraft. Betrachten wir nun die kleinen, schwach-vegetirenden und wählen wir dabei die besonders deutlichen Verhältnisse von *Bac. Rad.* var. *Fabae* als mehr specielles Beispiel (Fig. 9 *c* und *d*).

Die Stäbchen, woraus diese kleinen Colonien bestehen, zeigen uns eine Reihe von Uebergangsbildungen zwischen die gewöhnlichen Stäbchen und die Bacteroiden, obschon die echte Bacteroidenform nur selten in den Colonien zur Ausbildung gelangt. Das eigentlich Characteristische der kleinen Stäbchen besteht in deren unsymmetrisch-spindelförmiger Gestalt. Die Stäbchen sind nämlich einseitig und zwar etwas neben der Mitte gebuckelt, in der Weise, dass wenn sich diese Anschwellung weiter erhebt, — was factisch bisweilen geschieht — die eigenthümliche, zweiarmige Gestalt der gewöhnlichen Bacteroiden erreicht wird. Da die Mehrzahl der Stäbchen einfach cylindrisch ist, so bemerkt man die Eigenthümlichkeit nicht sofort, Uebung und wiederholte Beobachtung ähnlicher Präparate ist dafür nothwendig, einmal beobachtet, findet man die characteristischen Objecte aber zu Hunderten. Da die kleinen Colonien ziemlich fest, käsig zusammenhängen und die Stäbchen derselben meistens keine Eigenbewegung zeigen, müssen die Colonien für die Beobachtung unter dem Deckglas sehr fein gerieben werden. In diesen kleinen Colonien finden sich ebenso wie in den grossen zahlreiche, sehr schnelle Schwärmer *(sch)*, welche in allen Richtungen durch das Präparat schiessen.

Gehen wir nun, am Ende unserer Betrachtung der sich innerhalb der Knöllchen mehr vollständig metamorphosirenden *Radicicola*formen, zu den Urhebern der Knöllchen mit bacterienähnlichen Bacteroiden über.

Vergleicht man solche wenig differencirte Bacteroiden, wie diejenigen von

Phaseolus, Ornithopus, Lotus, Caragana, Cytisus, Robinia, Lupinus, mit den dazu gehörigen Bacillen, so ergiebt sich als einzig direct wahrnehmbarer Unterschied die Gegenwart der Schwärmer in den Colonien, während dieselben gewöhnlich in den Bacteroidenpräparaten fehlen. Hier ist kaum etwas von der oben beschriebenen buckelartigen Anschwellung in den Bacterienstäbchen zu finden (Fig. 13), gänzlich in Uebereinstimmung mit der einfachen Natur der Bacteroiden [1]). Auch die Schwärmer sind weniger characteristisch, wie bei der *Vicia*gruppe, und den gewöhnlichen beweglichen Stäbchen (Fig. 12 *b*) ähnlich. Hier finden wir also eine grosse Uebereinstimmung zwischen den aus jedem einzelnen Knöllchen herkünftigen Colonien, welche nur durch die ungleiche Vegetationskraft ihre Einförmigkeit theilweise verlieren können.

Füge ich nun noch hinzu, dass die zuletzt besprochenen Formen gewöhnlich etwas leichter auf Fleischwasserpeptongelatine wachsen, wie die zu den höher metamorphosirten Bacteroiden gehörigen Bacterien, so habe ich die mehr allgemeinen Unterschiede zwischen den zwei Gruppen genannt und verweise für fernere Besonderheiten auf Abschnitt 8.

Die Ansicht, dass die angeführten Merkmale zur Aufstellung wenigstens zweier Arten Veranlassung geben, wird zwar gestützt durch die nicht unerhebliche erbliche Kraft, welche sowohl der normalen Stäbchenform, wie den gebuckelten Bacillen innewohnt, kann jedoch keinen Stand halten der Beobachtung gegenüber, dass die Reihen der aus jeder besonderen Papilionacee zu züchtenden Bacillencolonien identische Glieder aufweisen. Reciproke Infectionsversuche mit Bacterien aus beiden Formenkreisen werden die Sache endgültig entscheiden.

Immerhin glaube ich nicht, dass fernere Untersuchungen, selbst nicht die Züchtung der Bacterien aus den Knöllchen der Mimosen und der anderen Abtheilungen der Leguminosen, wozu mir die Gelegenheit fehlte, auf die Dauer diese meine Ansicht als unrichtig erweisen wird. Dagegen werden Botaniker, welche nur einige wenige Pflanzenspecies nachuntersuchen, sich eben wie ich es anfangs gethan, der Annahme der Artdifferenz zwischen den Wurzelbacillen zuneigen.

Von dem Gesichtspunkte der Arteinheit aus ist natürlich die grosse Verschiedenheit in den Bacteroiden um so interessanter. Ich muss jedoch betonen, dass ich in meinen Culturen von allerlei Bacterien, zweiarmige »Bacteroiden«, so schön und wohl ausgebildet, wie in den vollkommensten Leguminosenknöllchen, sehr oft angetroffen habe. Als gutes Beispiel in dieser Beziehung, nenne ich *Bacterium phosphorescens* [2]), welche Art mit *Bacillus Radicicola* systematisch verwandt ist, und wobei in älteren Stähchen-Colonien, wie oben schon erwähnt, viele »Kugel-« und »Gabelbacteroiden« vorkommen. Eine reichliche Ernährung mit Kohlehydraten und stickstoffhaltigen Nährstoffen zu gleicher Zeit, spielt bei deren Entstehung eine Hauptrolle. An anderer Stelle werde ich auf dieses Verhalten weiter eingehen.

Ich schliesse diese allgemeinen Betrachtungen über *Bacillus Radicicola* mit der

---

[1]) Bei *Lupinus polyphyllus* sind die sehr langen Bacteroiden gewöhnlich fadenförmig, einzelne sind jedoch am einen Ende zweiarmig. Die kürzeren Bacteroiden von *Robinia* zeigen ein ähnliches Verhalten.

[2]) *Bacterium phosphorescens* kommt in Kugel- und Stäbchengestalt vor. Die Kugeln sind übrigens durchaus keine Mikrokokken; viele davon tragen einen »Augenfleck«. Unten werde ich noch auf diese Art zurückkommen.

aus vielen Versuchen abgeleiteten Beobachtung, dass derselbe keine besondere Gährungen, keine besondere Oxydationserscheinungen und keine Reduction, weder von Salpeter noch von Indigblau oder Bleu Coupier hervorruft; aus Wasserstoffsuperoxyd wird dagegen reichlich Sauerstoff abgespalten. Sporenbildung kommt überhaupt nicht vor; Gefrieren und Austrocknen wirken nicht tödtlich. Die Culturen sterben in Nährflüssigkeiten sicher zwischen 60 und 70° C., meistens schon niedriger.

Die Frage, ob der Einfluss, durch den die Bacterien das Protoplasma afficiren, und welches darauf mit der Knöllchenbildung antwortet, auf eigenthümlichen Absonderungsproducten oder nur auf den Ernährungsbedingungen der Bacterien beruht, entzieht sich vorläufig der Beantwortung. In dieser Beziehung scheint mir eine principielle Differenz mit den übrigen Cecidien nicht vorzuliegen, sodass wohl die erstere dieser beiden Möglichkeiten die zutreffende sein dürfte.

7. Neues Verfahren, um mikroskopisch kleine Quantitäten invertirender und diastatisch wirksamer Enzyme nachzuweisen.

Die Methode beruht auf der Beobachtung, dass *Bacillus phosphorescens* Hermes[1]) in einem Nährmedium, wovon das Leuchtmaterial verbraucht ist, aufs neue zu leuchten beginnt, wenn Glucose, Galactose, Laevulose, Invertzucker oder Maltose zugegeben werden, während Saccharose, Milchzucker und gelöste Stärke die photogene Function nicht beeinflussen. Bringt man also in eine dunkelgewordene Phosphorescenz-Cultur Rohrzucker oder gelöstes Amylum, so beobachtet man Nichts, fügt man dann jedoch irgend einen Organismus hinzu, welcher Invertin resp. Diastase erzeugt, so beginnt das Leuchten nach kurzer Zeit aufs Neue. Combinirt mit dem Gelatineverfahren lassen sich auf diese Weise einzelne Bacteriencolonien leicht und sicher auf die genannten Enzymwirkungen untersuchen.

Ein Beispiel:

Man fertige einen Decoct von Fisch in Seewasser an, füge demselben 7% Gelatine zu und vermische mit einer reichen Phosphorescenz-Cultur. Nach dem Erstarren entsteht dann ein fester, gleichmässig leuchtender Boden, welcher, sobald die Leuchtkraft geringer wird, das heisst nach zwei oder drei Tagen, eine ausserordentliche Empfindlichkeit für die verschiedenartigsten chemischen Einflüsse besitzt. Legt man darauf ein Stückchen chemisch reinen Rohrzucker[2]), so wird beim Auflösen und Diffundiren desselben in die Gelatine die Leuchtkraft des Bodens nicht erhöht. Bringt man dann aber in das Diffusionsfeld des Rohrzuckers einige Hefezellen, eine Spur von Invertin, oder irgend einen Rohrzucker invertirenden Organismus, so entsteht beinahe augen-

---

[1]) Syn. *Micrococcus phosphorescens* Cohn, *Micrococcus Pflügeri* Ludwig. Wächst allgemein auf gesalzenen Fischen, verflüssigt die Gelatine nicht. Sehr verschieden davon ist der Gelatine verflüssigende West-Indische Leuchtbacillus, *Bacillus phosphorescens* Fischer, welchen ich durch die Güte des Autors untersuchen konnte, sowie die von mir *Vibrio luminosus* benannte Leuchtbacterie der Nordsee, welche ich aus dem Küstensande und von Seefisch isolirt habe. Mehr darüber an anderer Stelle.

[2]) Die geringste Spur anhaftenden Invertzuckers leuchtet, so lange, bis derselbe aufgezehrt ist. Raffinose dagegen lässt den Leuchtboden unverändert.

blicklich ein hellleuchtender Fleck, infolge der Invertzuckerbildung. Dieses einzige Beispiel mag hier genügen.

An anderer Stelle soll die Methode, welche auch einer ausgedehnten Anwendung ausserhalb des Gebietes der Enzyme fähig ist und eine Reihe von Fragen in Bezug auf die Sauerstoffathmung einfach und klar beantwortet, ausführlicher beschrieben werden. Inzwischen beschäftige ich mich damit, weitere Untersuchungen darüber auszuführen und zwar gemeinsam mit meinem Freunde Herrn Wysman, der in meinem Laboratorium die Diastase bearbeitet.

Bacillus Radicicola erzeugt weder Diastase noch Invertin.

Da es sehr nahe verwandte, schwierig von *Radicicola* zu unterscheidende Bacterien giebt, wodurch Rohrzucker wohl invertirt wird, — und darunter wenigstens eine Art, der *Bacillus luteo-albus,* welche saprophytisch in todten Zellen oder Intercellularräumen der Knöllchen lebt, — ist hiermit zu gleicher Zeit ein gutes Merkmal zur Diagnose gegeben.

8. Einige besondere Beispiele.

Obschon die Untersuchungsresultate der Knöllchen der verschiedenen Papilionaceen in bacteriologischer Hinsicht nahe übereinstimmen, scheint es mir doch erwünscht, einige Beispiele noch gesondert zu betrachten. Ich will vorausschicken, dass sich bei den von mir untersuchten Formen mit einer gewissen Schärfe zwei Hauptfälle unterscheiden lassen, deren Merkmale unter den Gruppen-Kennzeichen angegeben sind.

1. Gruppe. Die grösseren Colonien mehr hyalin. Wachsthum auf Fleischwasserpeptongelatine schwierig oder überhaupt ausbleibend, durch Rohrzucker und Dextrose gefördert; Schwärmer sehr klein. Bacteroiden zweiarmig, oder kugelig, oder birnförmig. Meristem immer in den Knöllchen gegenwärtig. Primäre Rinde der Knöllchen geschlossen. Schleimfäden deutlich.

Hierher gehören die folgenden Formen:

Bacillus Radicicola var. *Fabae* aus *Vicia Faba* und *V. Narbonensis.* Ich untersuchte zahlreiche Exemplare der ersteren, einzelne der zweiten Art und konnte keine Differenz in den Bacillen auffinden.

Die fleischfarbigen Knöllchen sind kuglig, seitlich abgeplattet, ca. 7 mm in Mittellinie. An schwachen Pflanzen in humusreicher Erde entwickeln sich ausnahmsweise einzelne Knöllchen, diese können dann bis haselnussgross werden und besitzen eine zierlich meandrisch gewulstete Oberfläche. Die Entleerung ist ein sehr unregelmässiger Vorgang, fällt durchaus nicht genau mit der Fruchtbildung der Nährpflanze zusammen und bleibt oft gänzlich aus, so dass ich an abgestorbenen *Faba*pflanzen im November vollständig frische Knöllchen mit normalen Bacteroiden fand.

Die meisten Knöllchen enthalten verzweigte, schön-hyaline Bacteroiden (*a* Fig. 9), welche bei normaler Entleerung etwas einschrumpfen, und dann zuerst in dunkelconturirte, aus Bläschenreihen gebildete Körperchen übergehen, zuletzt sich nicht mehr von den Cytoplasmamikrosomen unterscheiden lassen. Die Bacteroiden werden durch die Entleerung nicht fähig, zu Bacterien auszuwachsen. Die mikrosomenartigen Reste liegen am Ende der Entleerung in einer schleimigen grünen Masse. Das Cytoplasma

tauscht nämlich seine ursprünglich rothe Farbe allmählich in eine intensiv grüne um, wobei es zu gleicher Zeit klebrig wird.

Die Bacteriencolonien werden am sichersten aus dem Meristem der Knöllchen gezüchtet; ich erhielt ebenfalls zahlreiche Colonien aus noch in der Mutterwurzel eingeschlossenen Knöllchen. Die kleinen Colonien enthalten gebuckelte Stäbchen und viele Schwärmer (Fig. 9 *c*), die allerkleinsten, sehr sonderbar gestalteten protozoenartige Körperchen (Fig. 9 *d*). In Nährflüssigkeit, z. B. *Faba*stengeldecoct, entsteht die gewöhnliche Stäbchenform (Fig. 9 *e*). Das Wachsthum der *Faba*bacillen ist ziemlich üppig, die Lebenskraft gross. Beim Aufbewahren in einem Keller fand ich die Schwärmer auf *Faba*stengelgelatine noch nach einem Jahre beweglich und keimfähig.

Besonders unter den grösseren, auffallend schön ausgewachsenen Knöllchen werden diejenigen gefunden, welche schliesslich der Bacterienerschöpfung anheimfallen; dieselben sind auf Querschnitten schon makroskopisch zu erkennen, nämlich an der mehr weisslichen Farbe und der pulverigen nicht schleimigen Consistenz des Bacteroidengewebes. Mikroskopisch ergiebt sich letzteres Gewebe als erfüllt mit Bacterien, welche theilweise im Zellinhalt herumschwimmen. Die Bacteroiden verlieren dabei das Eiweiss in abnormer Weise, und der Körper derselben wird zu einem leeren Säckchen, das primäre Bläschen (*pb* Fig. 9 *b*), worin kleine, mit Jod sich intensiv braun färbende Oeltropfen, die secundären Bläschen (*sb*), sich ansammeln. Bei der Cultur geben die der Bacterienerschöpfung anheimfallenden Knöllchen, wie zu erwarten war, zahllose Colonien selbst in denjenigen Impfstrichen, welche dem Bacteroidengewebe entlehnt werden, während die normalen Knöllchen aus dem Bacteroidengewebe keine Colonien erzeugen.

Die Bacterien aus dem Bacteroidengewebe, welches der Bacterienerschöpfung anheimgefallen ist, gehören zu den kräftig wachsenden Formen.

Bei der Entwicklung der Knöllchen verlieren die Bacterien ihre Wachsthumsfähigkeit in sehr verschiedenen Stadien. Der gewöhnliche Gang bei der Entstehung derjenigen Knöllchen, welche später der normalen Entleerung anheimfallen, scheint dieser zu sein: So lange die Knöllchen noch unter der Rinde der Mutterwurzel sitzen, können aus dem ganzen Innern derselben Bacterien erzogen werden; nach dem Hervorbrechen aus der Rinde beschränkt die Zone der wachsthumsfähigen Bacterien sich mehr und mehr auf das Meristem, bis schliesslich auch darin die Wachsthumsfähigkeit der Bacterien erlöscht.

Die Knöllchen, welche später durch die Bacterien selbst erschöpft werden, enthalten, wie gesagt, in allen Stadien, sowohl im Meristem wie im Bacteriengewebe, keimkräftige Bacterien.

Die Cultur der *Faba*bacillen in *Faba*stengeldecoct mit etwas Asparagin sieht man in Fig. 9 *e* abgebildet, — gewöhnliche und gebuckelte Stäbchen und Schwärmer treiben oder schiessen durch die Flüssigkeit umher.

Die Knöllchen von *Vicia sativa* und *V. Cracca* sind von denjenigen von *Faba* ziemlich verschieden, bei *Cracca* übrigens gewissermaassen dimorph; bacteriologisch ergaben diese Arten das nämliche Resultat wie *Faba* und *Narbonensis*. Von *Ervum Ervilia* und *Ervum Lens* kann ich nahezu das Nämliche sagen.

Bacillus Radicicola var. *Viciae hirsutae*. Ich untersuchte alle Knöllchen eines einzelnen Stockes von *Vicia hirsuta* aus den Dünen. Obschon die Pflanze noch nicht

blühte, waren die Knöllchen erwachsen und in Bacterienerschöpfung begriffen, die Culturen gelangen deshalb sehr leicht. Die Bacteroiden waren gross, (Fig. 11 *a*) undeutlich verzweigt, angeschwollen, primäre und secundäre Bläschen (*pb* u. *sb*) sehr deutlich, viele secundäre Bläschen trieben einzeln umher. In einem Knöllchen fand ich überhaupt keine Bacteroiden, sondern nur Bacterien (Fig. 11 *b*). Die Colonien auf Gelatine bestehen aus stark gebuckelten, bacteroidenähnlichen Stäbchen (Fig. 11 *c*). Schwärmer zahlreich.

Hier dürften sich die *Medicago-*, *Genista-Melilotus*bacillen anschliessen.

Die Entwicklung der *Vicia*bacteroiden in den successiven Meristem-Querschnitten (Fig. 1, *14 a*, *14 b*, *14 c*, *14 d*) ist in Fig. *14 a*, *b*, *c*, *d* angegeben; wie man sieht, sind mikrosomenartige, schwärmerförmige Bacterien der Ausgangspunkt.

Bacillus Radicicola var. *Trifoliorum*. Ich untersuchte *Trifolium pratense*, *T. repens* und *T. procumbens*. Die Bacteroiden (Fig. 10 *a*) sind kuglig oder birnförmig, schön hyalin; diejenigen des Rhizoms von *T. repens* sind »Hemmungsbacteroiden«. Bei der Bacterienerschöpfung entstehen viele secundäre Bläschen. In den Colonien die gewöhnlichen Erscheinungen (Fig. 10 *a*); Die Schwärmer und Stäbchen sind ziemlich gross, in den kleinen Colonien sind sie verzweigten Bacteroiden sehr ähnlich.

Bacillus Radicicola var. *Pisi*. Die Erbsenknöllchen sind ausserordentlich verschieden in Grösse, Form und Inhalt, die grössten sind innen gewöhnlich weiss und deren ganzes Bacteroidengewebe mit erschöpften Bläschenbacteroiden und vielen schnell umherschwimmenden Bacterien angefüllt (Fig. 12 *c*). Die normalen Knöllchen enthalten keine direct sichtbaren Bacterien, aber sehr schöne Bacteroiden (Fig. 12 *a*), welche oft zweifach dichotom sind. Die Vegetationskraft der Bacterien (Fig. 12 *b*) ist gross; gebuckelte oder bacteroidenförmige Stäbchen konnte ich nur selten in den Colonien finden. Die Culturen in Nährflüssigkeit sind üppig, die Stäbchen darin ziemlich gleichmässig, die Schwärmer gross, den Stäbchen der Colonien auf Erbsenstengelgelatine sehr ähnlich. Das genannte Verhalten weicht mehr von demjenigen der *Vicia*bacillen ab, wie die Verhältnisse der letzteren unter sich.

Die Erbsenbacillen wachsen auf Fleischwasserpeptongelatine, allein sehr langsam, erst nach 10 bis 14 Tagen werden die Colonien darauf gut sichtbar.

Bacillus Radicicola var. *Lathyri*. Ich untersuchte *Lathyrus tuberosus*, *L. sativus*, *L. Ochrus*, *L. Cicera*, *L. Nissolia* und *L. Aphaca*. Die Knöllchen sind ziemlich verschieden. Bei *L. sativus* fand ich durch wiederholte Verzweigung entstandene Knöllchen von Haselnussgrösse, denen der Erlen äusserlich ähnlich. Die Bacterien sind nicht ganz identisch, es war mir jedoch unmöglich, constante Verschiedenheiten zu finden, muss aber hinzufügen, dass ich nur die *Aphaca*bacillen in fortlaufenden Culturen gehalten habe. *L. Aphaca* interessirte mich besonders wegen der Schnelligkeit, womit die Knöllchen entstehen und ferner wegen der Beweglichkeit, welche ich nicht nur an frei präparirten, sondern selbst, obschon sehr selten, an innerhalb der Zellen eingeschlossenen Bacteroiden gesehen habe. Ich gebe in Fig. 15 die Abbildung von solchen Bacteroiden, welche ich zweifellos rotiren und fortschwimmen sah. Die Bacteroiden von *L. Aphaca* sind krumm, plump und dick; diejenigen von *L. Ochrus* sind sehr zierlich, oft regelmässig sternförmig (Fig. 16). In vielen Papilionaceenknöllchen fand ich, deutlicher wie bei anderen Papilionaceen, zwischen den normalen Bacteroiden, einzelne von äusserster Dünnheit, welche sich als »Gespenstbacteroiden« würden bezeichnen lassen. In meinem Garten konnte ich nur selten sich während der

Fruchtreife des Wirthes normal entleerende *Lathyrus*knollchen auffinden, und selbst beim Absterben der Nährpflanze fand ich daran noch viele frische Knöllchen mit turgescenten Bacterien.

2. Gruppe. Colonien mehr trüblich weiss, opac; Wachsthum auf Fleischwasserpeptongelatine etwas ausgiebiger, wie bei der ersten Gruppe; Schwärmer mehr stäbchenförmig, gewöhnlich länger. Bacteroiden bacterienähnlich, seltener verzweigt. Schleimfäden fehlen oder sind nur wenig entwickelt. In den Knollchen meist kein Meristem (Ausnahme *Robinia*).

Die hierher gehörigen Knöllchen lassen sich zu drei Typen anordnen: Der *Phaseolus*typus, der *Lupinus*typus und der *Robinia*typus.

Phaseolus-Typus.

Phaseolus vulgaris, Lotus corniculatus und *Ornithopus perpusillus* besitzen Knöllchen mit einer etwas abweichenden Structur. Die primäre Rinde ist dabei nämlich gewöhnlich zerrissen und auf einige schmale Längsstreifen beschränkt, wie bei einem Radieschen, derweise, dass das hyaline Gewebe (*hg* Fig. 2) an der Oberfläche liegt. Das Meristem fehlt vollständig.

Ich konnte *Ornithopus perpusillus* nur von Sandboden aus Hilversum untersuchen. Auf einem alten Gartenboden zu Delft entstanden bei meinen Aussaaten von *Ornith. sativus* überhaupt keine Knöllchen; zahlreiche dagegen auf dem nämlichen Boden an *Lotus corniculatus* und *Phaseolus vulgaris*.

Die Cultur von *Bacillus Radicicola* aus den älteren Knöllchen erforderte hier, wie schon früher bemerkt, viel Geduld. Die Keime sind sehr lethargisch und wachsen auf Gelatine erst am fünften oder siebenten Tage. Man thut am besten, junge, äusserlich gut sterilisirte Knöllchen in Wasser zu zerreiben und dieses über die Gelatine auszugiessen, denn in den Impfstrichen überwuchern die einzelnen activeren *Radicicola*-Keime leicht die weniger activen. Nach einigen Tagen sieht man dann tausende sehr kleine Colonien entstehen, worunter nur ganz vereinzelt einige grössere. Die kleinen Colonien konnte ich weder durch Zusatz von Asparagin noch durch Rohrzucker oder Glucose treiben. Oft beginnt jedoch, auf einmal und ohne jede wahrnehmbare Ursache ein schnelleres Wachsen, wobei dann Colonien-Formen entstehen, welche denjenigen der ersten Gruppe mehr ähnlich sind.

Bei *Ornithopus* bestehen die Colonien aus dünneren und längeren Stäbchen wie in der ersten Gruppe. Die Schwärmer sind stäbchenförmig, in jeder Colonie nicht sehr zahlreich. Beim Abnehmen der Colonien von der Gelatine verfilzen die Stäbchen leicht zu dünnen, weisslichen Häuten oder Flöckchen.

Lotus corniculatus verhält sich ähnlich, dabei sind die Colonien jedoch durchsichtiger und flüssiger; alte Culturen auf erschöpftem Nährboden verflüssigen die Gelatine in leichtem Grade.

Bei den *Phaseolus*bacillen aus *Phaseolus vulgaris*, welche sich übrigens, wie die *Lotus*bacillen verhalten, war eine alte Gelatinecultur vollständig in eine kreideweisse Bacteroidenmasse verwandelt. Diese Bacteroiden zeigten alle möglichen, bei Papilionaceen überhaupt vorkommenden Gestalten. Die Nährgelatine hatte in diesem Falle folgende Zusammensetzung: Destill. Wasser mit 7 % Gelatine, 8 % Rohrzucker, 0,5 % Asparagin, 0,2 % Pepton, 0,02 % Raulin'sches Salzgemisch.

Die abweichende Structur und Form der Knöllchen der drei zuletzt besprochenen Gattungen, welche besonders bei *Lotus* sehr auffallend ist [1]), hat mich veranlasst, mich eingehender mit diesen Pflanzen zu beschäftigen, weil ich vermuthete, dass hier eine besondere Bacterienart vorliegen könnte. Es ergab sich jedoch, wie gesagt, dass die hier gefundenen Differenzen in Bezug auf die der ersten Gruppe zwar unverkennbar, allein doch wohl zu geringfügig sind zur Aufstellung einer besonderen Species.

Lupinus-Typus.

Bacillus Radicicola var. *Lupini*. Ich untersuchte *Lupinus polyphyllus* (die gewöhnliche blaue Gartenlupine, worin Woronin zuerst die Bacterien entdeckte) und *L. luteus* genauer. Die Knöllchen werden bekanntlich sehr gross, besitzen kein Meristem und keine Schleimfäden. Die Bacteroiden sind lang und dünn, meist unverzweigt, bisweilen jedoch mit zwei langen Armen. Die Bacteriencultur gelingt leicht aus sehr jungen Knöllchen, welche noch kein cm dick sind; in den älteren sind die Bacterien meistens inactiv, und dann dauert es mitunter eine Woche, ehe die Reviviscenz anfängt, oder die Wachthumsfähigkeit ist gänzlich erloschen. So begann das Wachthum in meinen Culturen aus jungen Knöllchen im Juni schon am zweiten Tage, dagegen sah ich im November erst nach sieben Tagen die ersten Spuren der Entwicklung. Das Aussaatmaterial war in beiden Fällen der organischen Spitze der Knöllchen entlehnt. Die späteren Aussaaten einmal wachsender Culturen sind viel activer, allein die individuellen Keime erzeugen auch hier Colonien von einer ungleichen Wachsthumsenergie.

Die Bacterien sind dünne, kurze Stäbchen; gebuckelte darunter fand ich niemals; auf Fleischwassergelatine dagegen nicht selten zweiarmige Bacteroiden. Die Schwärmer sind äusserst klein, und manche verlieren sich so zu sagen in das leere Nichts. Oft findet man in den Colonien nur eine Bacterienmasse, welche vollständig identisch ist mit den mikrosomenartigen Bacterienkeimen im Cytoplasma der jungen Knöllchenzellen. Bei erneuter Aussaat kann man diese Pulverteilchen sich verlängern und zu Stäbchen auswachsen sehen. Die pulverartigen Colonien können besonders fremdartig werden, wenn darin, was oft zutrifft, keine Schwärmer vorkommen. Impfstriche von *Lup. luteus* werden nach Monaten grauweiss, diejenigen von *L. polyphyllus* bleiben schneeweiss. *L. mutabilis* verhält sich wie *L. polyphyllus*. *L. albus* bildete bei mir überhaupt kein Knöllchen.

Die Erscheinungen der Bacterienerschöpfung sind die gewöhnlichen, kommen jedoch nur selten zur Beobachtung.

Die *Cytisus*-Bacillen stimmen in jeder Hinsicht mit denen der Lupinen überein.

Robinia-Typus.

Die sehr interessanten Knöllchen von *Robinia Pseud-Acacia* können perenniren und vermittels des Meristems in folgenden Jahren auswachsen; die Biologie derselben ist mir, trotz vieler Mühe, nicht ganz klar geworden. Aus manchen Knöllchen mit vollständig normalem Inhalte erhielt ich aus allen Theilen [2]) mit der grössten Leichtig-

[1]) Bei *Lotus corniculatus* sind es platte, deprimirt scheibenförmige Körperchen, welche oft theilweise die Wurzel umfassen oder einhüllen.

[2]) Ich untersuchte gesondert Rinde, Meristem, Bacteroidgewebe und Knöllchennabel. Bei sorgfältiger Ausführung bekommt man leicht übereinstimmende Resultate.

keit zahllose Colonien, aus anderen Knöllchen nur aus dem Meristem, aus noch anderen überhaupt keine. Die Bacteroiden sind sehr klein und dünn, bacterienähnlich, nur selten verzweigt, oft mit einem oder zwei Punkten oder Bläschen (Fig. 13 *a*). Dieselben sind in den Zellen des Bacteroidengewebes sehr oft zu kugeligen Anhäufungen von auffallender Regelmässigkeit und Gleichheit vereinigt; wie diese Kugeln entstehen, ist mir unbekannt. Die Bacterien (Fig. 13 *b*) sind klein, lagern sich eben wie bei *Cytisus, Faba, Lupinus* etc. leicht nebeneinander und bilden dann kleine Klümpchen von unregelmässiger Gestalt. Die Schwärmer besitzen die gewöhnlichen Eigenschaften.

Bei *Caragana* beobachtete ich nahezu dieselben Erscheinungen wie bei *Robinia*.

9. Entwicklung der Bacteroiden und der Schleimfäden.

Die Entwicklung der Bacteroiden und der »Schleim-« oder »Kerntonnenfäden« lässt sich am besten in den Knöllchen, welche vermittelst Meristem fortwachsen, beobachten. In Bezug auf die Schleimfäden kann ich kurz sein. Während man in den jüngsten Meristemzellen (*a* Fig. 5 u. 6) einen deutlichen, anscheinend normalen Kern erblickt, sieht man in den älteren Regionen des Meristems anstatt der Kerne mehr oder weniger formlose Schleimmassen (*schl* Fig. 5 β), welche die Zellwände zwischen angrenzenden Zellen durchsetzen. Bei Chromsäure-Metylenblaufärbung ergiebt sich die Schleimmasse als Product der Kerntonnen; die Kerne selbst werden durch die Färbung gewöhnlich wieder deutlich sichtbar, können jedoch unter besonderen Umständen, nämlich in den Knöllchen mit frühzeitiger Bacterienüberwucherung (links in Fig. 6), an sich gänzlich in die schleimige Desorganisation aufgehen [1]. Den gewöhnlichen Zustand der Schleimfäden im erwachsenen Bacteroidengewebe sieht man in Fig. 7 nach einem gefärbten Präparate gezeichnet. Die Fäden verbinden die Kerne oder sind, wenn bei dem Zellwachsthum durchgerissen, auf Kerne gerichtet.

Die Beobachtung der Entwicklung der Bacteroiden ist leicht auszuführen, wenn man dieselben aus den Meristem-Querschnitten, nachdem diese durch Abpinseln gereinigt sind, freipräparirt, viel schwieriger dagegen in den geschlossenen Zellen. Man sieht in Fig. 14 vier aufeinanderfolgende Entwicklungsstadien *a, b, c, d*, welche den Meristemquerschnitten Fig. 1, *14 a, 14 b, 14 c, 14 d* entsprechen. Man bemerkt daraus, dass die Anfänge der Bacteroiden in ihrer Form vollständig mit den Schwärmern übereinstimmen. Eben dieser Umstand verursacht grosse Schwierigkeit bei der directen Verfolgung der Entwicklung in den unversehrten Meristemzellen. Es ist nämlich völlig unmöglich, die im Cytoplasma eingeschlossenen Schwärmer von den Mikrosomen zu unterscheiden. Die Schwierigkeit wird noch vergrössert dadurch, dass die jungen Bacteroiden nahezu dasselbe Brechungsvermögen, wie das Cytoplasma besitzen. Folge davon ist, dass man bei sorgfältiger mikroskopischer Beobachtung im Meristem, im jüngsten Theile (α Fig. 5) nur Mikrosomen, und dann in den älteren Regionen erst undeutlich (γ Fig. 5), dann völlig klar (δ), die Bacteroiden scheinbar als Stücke des Cytoplasmas sich individualisiren sieht. Gleichzeitig damit reihen die fertigen Bacteroiden sich netzartig an einander (Fig. 8) oder bilden die bei *Robinia* beschriebenen Kugeln.

[1]) Mein Freund Dr. J. W. Moll zu Utrecht, der viel Erfahrung bezüglich der Kernfärbung besitzt, hatte die Güte, schöne gefärbte Schnittserien der Knöllchen von *Lathyrus sylvestris* für mich anzufertigen.

Was bei diesen Vorgängen mit den Mikrosomen geschieht, konnte ich auch nach langer Untersuchung nicht sicher feststellen; manchmal finden sich mikrosomenartige Körperchen noch zwischen den reifen Bacteroiden, manchmal auch keine. Ich musste mir deshalb die Frage vorlegen, ob die Bacteroiden auch vielleicht aus den Mikrosomen des Cytoplasmas entstehen können? Eigentlich ist diese Möglichkeit in dem Vorhergehenden zwar schon genügend widerlegt worden, allein ich wünsche noch ein paar Punkte zu besprechen, welche für mich selbst die letzten Zweifel entfernten, nämlich das Vorkommen von Bacteroiden an anderen Stellen der Pflanze, wie in den Knöllchen und die directe Wahrnehmung der Reviviscenz junger Bacteroiden innerhalb geschlossener Zellen, ich will dieses im nächstfolgenden Paragraphen besprechen. Vorher habe ich jedoch noch eine andere Seite der Entwicklungsgeschichte zu betrachten, nämlich die Erscheinungen in den Knöllchen bei, mit dem Wachsthum derselben gleichzeitig fortdauernder Bacterienvegetation, das heisst, die Entstehung derjenigen Knöllchen, welche später der Bacterienerschöpfung anheimfallen.

Dieser Vorgang beruht allem Anscheine nach darauf, dass die Bacterienkeime nur zeitweise im Cytoplasma verweilen und dann wieder in dem Zellsaft frei herum treiben oder schwärmen. So erkläre ich mir wenigstens die Erscheinung, dass man in allen Stadien der Entwicklung im Safte der Meristemzellen und des Bacteroidengewebes solcher Knöllchen (α, β, γ, δ Fig. 6), bewegliche oder ruhende Stäbchen oder Schwärmer erblickt, und überdies, im letztgenannten Gewebe auch weiter und weiter ausgebildete Bacteroiden. Ich betone hierbei besonders, dass man die Bacteroiden im Zellsaft antrifft. Durch plasmolytische Versuche überzeugte ich mich, dass die untersuchten Gewebe turgescent und deshalb lebendig waren. Das Wachsthum solcher Knöllchen ist, wie schon mehrfach gesagt, ein besonders ausgiebiges, so dass die Absonderung der cecidiogenen Stoffe, welche das Wachsthum beeinflussen, hier offenbar reichlicher ist, als in den normalen Knöllchen. Nicht nur letzterer Umstand, sondern auch die oft vorhandene, eigenthümliche, dichtgedrängte Stellung mehrerer solcher Knöllchen an der nämlichen Wurzel nebeneinander, veranlasst mich zu glauben, dass die Knöllchen mit späterer Bacterienerschöpfung entstehen infolge einer Invasion zahlreicher Schwärmer in die Zellen der Tragwurzel, — die normalen Knöllchen dagegen nur durch vereinzelte Schwärmer-Individuen von *Bacillus Radicicola*.

Da die Erschöpfung der Bacteroiden durch die Bacterien schon gleichzeitig mit der Entwicklung der Knöllchen stattfinden kann, treiben in deren Zellen gewöhnlich Bläschenbacteroiden umher, oder, bei denjenigen Pflanzen, wo man keine Bläschenbacteroiden zu finden pflegt, wie bei *Lathyrus Aphaca*, mikrosomenartige Bacteroiden in allerlei Stadien der Ausbildung. Die schleimige Degeneration der Kerntonnen ist in derartigen Knöllchen sehr üppig, oft, wie schon früher bemerkt, Cytoplasma und Kern insgesammt ergreifend.

10. Bacteroiden an anderen Stellen wie in den Knöllchen. Reviviscenz.

Dass die Wurzelbacterien auch in andere Zellen der Wurzel eindringen können, wie in die Initialen der Knöllchen war zu erwarten; es entstehen dabei auch Bac-

teroiden, jedoch niemals von der schönen Ausbildung wie im Bacteroidengewebe, sondern kleinere, dunkel und scharf contourirte, wie leblos im Zellsaft herumtreibende. Das Vorkommen derselben ist auf diejenigen Zellen beschränkt, zu welchen die Bacterien leicht Zugang finden können. So fand ich Bacteroiden in Wurzelhaaren und Epidermiszellen von *Lathyrus Aphaca (eb* Fig. 3), wo ich auch die stäbchenförmigen Vorstadien auffand; ferner in den Zellen der primären Rinde von *Pisum* und *Vicia*, in den Rindenzellen des Wurzelkernes von übrigens normalen Seitenwurzeln unmittelbar neben dem Centralcylinder der Mutterwurzeln, also tief in dem Gewebe der letzteren (*wk* Fig. 3), ferner in der ausgewachsenen, an die Endodermis grenzenden primären Rinde bei *Faba (rb* Fig. 3); in der secundären Rinde von *Caragana*wurzeln, ja selbst, in einzelnen Fällen, in den Rhizomen vom weissen Klee. Dagegen suchte ich darnach immer vergebens in oberirdischen Organen, nur mit Ausnahme des früher genannten Falles, wobei ich infolge des Einspritzens von *Radicicola*culturen in sehr junge Fabastengel, innerhalb der Markhöhlung einen Callus entstehen sah, worin ich in einigen Querschnitten zahlreiche Bacteroiden auffand [1]). Die Bacteroiden an allen diesen abnormen Stellen sind Hemmungsbacteroiden: dieselben sind sicher functionslos und sie dürften mit den Zellen absterben.

Diese Beispiele scheinen mir überzeugend zu beweisen, dass jedenfalls alle Zellen der Wurzelrinde und wahrscheinlich alle Parenchymzellen einer Papilionaceenpflanze zwar Bacteroiden erzeugen können, allein dieses nur für soweit thun, als Bacterien in dieselben eingedrungen sind. Auch daraus muss nothwendiger Weise geschlossen werden, dass die Bacteroiden aus Bacterien und nicht aus Mikrosomen entstehen. Dass die Mikrosomen nur durch Bacterieneinfluss zu Bacteroiden werden sollten, wird wohl niemand glauben, welcher meine Beschreibung von *Bacillus Radicicola* mit den nun angeführten Beobachtungen vergleicht. Ueberdies habe ich, besonders in der letzten Zeit, in zahlreichen alten *Radicicola*-Culturen wahre Bacteroiden aufgefunden, worauf auch oben (z. B. bei *Phaseolus)* schon hingedeutet wurde.

Und nun noch ein Wort über die directe Wahrnehmung der Reviviscenz.

Nach vielen vergeblichen Versuchen gelang es mir in einzelnen Fällen in allseitig geschlossenen Zellen junge, ruhende Bacteroiden zu schnell beweglichen Bacterien werden zu sehen. Ich beobachtete dieses direct unter dem Mikroskope in Präparaten der Knöllchen von *Caragana arborea*, welche in Hängetropfen von Fabastengeldecoct in van Tieghem'schen Glaskammern verweilten. Ich fixirte geschlossene Zellen, welche nahezu dem Zustand *14 c* Fig. 1 entsprachen und Bacteroiden wie Fig. *14 c* einschlossen. Bei Zimmertemperatur sah ich erst eine sonderbar schaukelnde Bewegung entstehen, — wahrscheinlich infolge der Bildung eines Schwärmfadens — zuletzt lösten die Stäbchen sich vom Cytoplasma und schwammen frei durch die Zellen. Durch Jod trat plötzlicher Stillstand ein. Der Versuch dauerte zwei Tage.

Dem Wunsche der Heterogonisten entsprechend, ihre Gegner möchten ihre Angaben prüfen, brachte ich Staubkörner verschiedener Blüthen (von Mais, Roggen, *Cytisus, Faba)*, sowie Stengelmeristeme von *Faba* unter ähnliche Verhältnisse wie die

[1]) Bei anderen ähnlichen Versuchen verschwanden die Bacterien in der Stengelhöhlung vollständig, obschon es an Callusbildung niemals fehlte.

beschriebenen, sowie auf geeignete Nährgelatine. Eine Veränderung der Mikrosomen ist dabei niemals vorgekommen.

Ich folgere aus alledem, dass die Bacteroidenkeime keine Mikrosomen sondern Bacterien sind.

11. Vorkommen von *Bacillus Radicicola* ausserhalb der Knöllchen. Art und Weise der Infection.

Bacillus Radicicola ist ein allgemein verbreiteter Spaltpilz; ich habe denselben aus allerlei Wasser- und Bodenproben isoliren können und die grösste Schwierigkeit ist dabei nur die Unterscheidung der kleinen, so wenig eigenthümlichen Colonien, von den vielen ähnlichen Arten. Die kleinen Schwärmer bewegen sich offenbar sehr leicht durch die Wasserhüllen der Bodentheilchen fort, und können im Culturboden die Wurzeln gewiss aus grosser Entfernung erreichen. Sie passiren poröse Filtrirmassen, wie diejenige der Chamberland-Filter leicht und vollkommen.

Besonders interessant ist das reichliche Auftreten der Wurzelbacillen unter folgenden Umständen.

Wenn man völlig frische Papilionaceenwurzeln in Wasser legt und darin einige Zeit bei Zimmertemperatur verweilen lässt, trübt sich das Wasser schon längst vor dem Absterben der Wurzeln durch eine sehr gleichförmige Bacterienvegetation, welche gänzlich verschieden ist von dem erst später beim Absterben der Wurzeln erscheinenden Gemenge der echten Fäulnissbacterien. In dieser Vegetation herrscht unser Wurzelbacillus ganz entschieden vor. Offenbar besitzen die übrigen, dabei gleichzeitig anzutreffenden Arten eine andere und mehr accidentelle Bedeutung.

Zerschneidet man eine solche Wurzel, nachdem sie einige Zeit in Wasser gelegen hat, so findet man, dass überall, wo sich Risse und Spalten vorfinden, *Bacillus Radicicola*, welcher unter diesen Umständen schnell beweglich ist, sich in diesen Räumen und Höhlungen angesiedelt hat und sich von dort aus über die erreichbaren Intercellularen verbreitet. Hier liegt also offenbar ein Fall vor von einer starken Anziehung, welche die Gewebe der Papilionaceenwurzeln auf die Wurzelbacterien ausüben, und wir müssen diese Wurzeln als wahre Bacterienfangapparate betrachten. Der wahrscheinlich dabei stattfindende Vorgang wurde oben schon eingehend besprochen.

Mustert man die Schnittpräparate, nachdem dieselben bis zur eintretenden Fäulniss im Wasser verweilten, genauer, so findet man viele todte Zellen, welche strotzend mit Bacterien angefüllt sind. Um solche Präparate zu sehen, braucht man nicht nothwendig Papilionaceenwurzeln zu verwenden, allerlei andere Pflanzentheile können das nämliche Resultat geben. Ich überzeugte mich, dass die in den todten Zellen vorkommenden Bacillen in gewissen Fällen sicher Wurzelbacillen waren, und dass die Zellwände der mit flimmernden Stäbchen angefüllten Zellen keine mikroskopisch auffindbaren Risse besassen. In anderen Fällen waren gewisse andere, mit *Radicicola* verwandte Arten eingewandert.

Bacillus Radicicola vermag Cellulose nicht zu verflüssigen, ja, selbst Stärke und lösliches Amylum werden durch unsern Bacillus, wie ich das schon früher beschrieben habe, durchaus nicht verändert. Es erscheint deshalb unabweisbar, das Eindringen der Schwärmer in das Zelllumen, durch die Existenz von Poren in der Zellwand zu erklären. Die Infection der lebenden Zellen des Wurzelpericambiums, welche zur

Knöllchenbildung veranlasst, muss durch solche Poren stattfinden. Die geringste Grösse, welche diese Poren besitzen müssen, um den Schwärmern den Durchgang möglich zu machen, ist nach früherer Aufführung gleich der Dicke des Rothes des ersten Newton'schen Farbenringes. Es erscheint nicht unmöglich, dass man hier an die in den letzten Jahren so viel besprochenen Heitzmann'schen Löcher zu denken hat, durch welche die Protoplasten angrenzender Zellen zusammenhängen. Ist dieses richtig, so müssen die Schwärmer irgend ein Bestreben besitzen, um durch das Protoplasma aufgenommen zu werden. Die Lagerung der Bacteroiden innerhalb des Cytoplasmas beweist, dass dieses wirklich stattfinden kann. Ich möchte hierbei eher an das active Eindringen seitens der Schwärmer, wie an eine passive Aufnahme derselben durch das Protoplasma denken. Die Schwärmer besitzen nämlich alle Eigenschaften, welche ein solches actives Hineinwandern wahrscheinlich machen: — Kleinheit, Schnelligkeit, Gewandtheit, Kraft und Mühelosigkeit, — ihnen ist mit einer geringeren Sauerstoffspannung noch besser gedient, als mit der gewöhnlichen, und die Säfte der Papilionaceenzellen sind ihre liebste Nahrung.

12. Doppelte Function der Papilionaceen-Knöllchen.

Obschon die Knöllchen nicht in dem nämlichen Sinne als normale Organe aufgefasst werden können, wie Wurzeln, Stengel, Blätter, so zeigen sie damit doch eine so weitgehende Analogie, dass die Existenz irgend einer ernährungsphysiologischen Function derselben zum Nutzen der Pflanze als gesichert erscheint. Die Beobachtung, dass, unabhängig von den zahlreichen Störungen und Ausnahmen, die Entleerung des Eiweissvorrathes aus den Bacteroiden als der normale Lebensausgang der Knöllchen betrachtet werden muss und, dass diese Entleerung, wenigstens für krautartige Pflanzen, wohlthätig sei, erlaubt wohl keinen Zweifel. Einstweilen nehmen wir den Eiweissvorrath der Bacteroiden als gegeben an, werden aber am Schlusse auf dessen Ursprung zurückkommen, und dann erst die wahrscheinliche Bedeutung der Knöllchen vollständig angeben können.

Der Nutzen der localen Eiweissanhäufung in den Knöllchen und der späteren Entleerung dürfte für die verschiedenen Papilionaceen sehr verschieden sein. Gross erscheint derselbe für die einjährigen Kräuter, wo die Entstehung der Knöllchen eine frühzeitige, die Bacterienbildung und die spätere Entleerung eine regelmässige [1]), die Gesammtmasse der Knöllchen und der Bacteroiden in Bezug auf die Masse der Nährpflanze eine nicht unbeträchtliche, die Differencirung der Bacteroiden eine sehr vollkommene ist. Untergeordnet dagegen erscheint der Nutzen bei den baumartigen Formen, bei welchen die Knöllchen erst spät und unregelmässig erscheinen, ja, oft gänzlich fehlen, und bei welchen die an sich weniger differencirten Bacteroiden, mehr der unregelmässigen Entleerung durch das Vorhandenbleiben wachsender Bacterien anheimfallen, sodass wir dabei an rudimentäre Organe zu denken veranlasst werden. Dass die innere Structur in allen Fällen auf der nämlichen Stufe der Ausbildung steht, kann uns bei Bildungen, welche offenbar so alt sind, wie die Gruppe der Leguminosen selbst, nicht Wunder nehmen. Schwer verständlich bleibt immerhin die Er-

[1]) Zwar bleiben auch bei den Annuellen viele Knöllchen bis zum Absterben der Pflanze unentleert.

klärung des Umstandes, dass die vollkommener verkorkten Endodermen eben nur bei den holzigen Papilionaceen vorkommen, allein das dürfte mit der gesammten höheren Gewebedifferencirung derselben, verglichen mit den Kräutern, zusammenhängen.

Zur Bekräftigung der Auffassung, dass das nämliche Organ in einem Falle nützlich, im anderen bei gleicher Differencirung überflüssig sein kann, erinnere ich an die ungleiche Wichtigkeit der Blüthen für verschiedene Pflanzen und an die Erscheinungen der Apogamie. Die Eiweissentleerung aus den Knöllchen besitzt jedenfalls nur eine lokale Bedeutung und kommt wohl nur den Wurzeln zu Gute zu einer Zeit, wenn deren Vegetationskraft erlischt und der Stofftransport aus den oberirdischen Theilen dahin schwieriger wird.

Ein Wort über die Bedeutung der einzelnen Theile der Knöllchen dürfte an dieser Stelle einen geeigneten Platz finden.

Die collenchymatische Verdickung der Rindenzellen vieler Knöllchen erscheint mir als ein Mittel, Bacterieninvasionen zu verhüten; die ausserordentlich grosse Fäulnissfähigkeit des Bacteroidengewebes überhaupt, und ganz besonders wenn Rindenwunden vorkommen, bestärkt mich in der Auffassung, dass ein solches Mittel nicht überflüssig sein kann.

Das hyaline Gewebe (*hg* Fig. 2 und 3) — wenn es nicht bei fehlender Rinde *(Lotus, Phaseolus, Ornithopus)* an sich Schutzfunction übernimmt — fungirt wohl sicher als Leitgewebe, die daran grenzenden Intercellularräume als Luftkanäle. Dem Meristem der Knöllchen, wenn vorhanden, dürfte ausser der Bildung neuer Gewebe und neuer Bacteroiden aus den darin befindlichen Bacterien überdies die Function obliegen, bei der Entleerung ein Enzym zu erzeugen, zum Zwecke der Auflösung des Eiweisses der Bacteroiden. Dieses halte ich für wahrscheinlich, wegen der sehr regen Thätigkeit des Meristems bei der Entleerung, gänzlich im Gegensatz zu dem erschöpften Cytoplasma des Bacteroidengewebes, und ferner, weil man in den meristemfreien Knöllchen *(Lupinus, Cytisus, Lotus, Phaseolus, Ornithopus)* immer nur sehr magere Bacteroiden findet, von denen es eigentlich sehr zweifelhaft ist, ob sie überhaupt als Reservenahrung dienlich sind [1]).

Die Nützlichkeitsfrage in Bezug auf die Knöllchen muss noch von einer andern Seite behandelt werden. Es fragt sich nämlich, ob es erlaubt ist, aus dem Vorhergehenden zu schliessen, dass die Knöllchen für die Bacterien vollständig nutzlos seien? Ich glaube, dass eine solche Auffassung nicht richtig ist, und dass, wenigstens in gewissen Fällen, das Leben in den Knöllchen den Bacterien in erster Linie zu Gute kommt. Ich meine, dass dieses dann eintreten muss, wenn die Knöllchen der Bacterienerschöpfung anheimfallen, ja, hier scheint mir der Nutzen so unwiderleglich, wie man bei derartiger Beweisführung nur erwarten kann. Die Knöllchen zerfallen dabei schliesslich unter Befreiung der eingeschlossenen Bacterien und fungiren desshalb als Brutstellen, durch welche die Bacterienzahl im Boden gehoben, und für die Bacterien schädliche Einflüsse vielleicht überstanden werden.

Fasse ich nun diese Betrachtungen kurz zusammen, so komme ich zu folgender Auffassung: Die Papilionaceenknöllchen sind Bacteriencecidien, nützlich für die Nährpflanze insoweit die normalen Bacteroiden als Eiweissvorrath fungiren, — nützlich für die Bacterien, insoweit die zahlreichen mit wachsthumsfähigen Bacterien er-

---

[1]) *Bacillus Radicicola* erzeugt kein Pepsin.

füllten Knöllchen bei deren Absterben als Heerde für die Verbreitung der Bewohner fungiren müssen.

Weshalb, so fragen wir weiter, benutzten die Papilionaceen eben die Wurzelbacterien, um Eiweissvorräthe anzulegen? Zeigen sie nicht an ihren Samen, dass sie diesen Zweck auch ohne Bacterien erreichen können? Die Antwort darauf muss jedenfalls in den Ernährungsbedingungen von *Bacillus Radicicola* gesucht werden, welche nun, sei es auch nur sehr oberflächlich, beschrieben werden sollen.

13. Ernährungsbedingungen von *Bacillus Radicicola*.

Schluss.

Wie unwahrscheinlich es auch a priori erscheinen dürfte, dass ein Organismus mit solchen schwachen chemischen Aeusserungen wie *Bacillus Radicicola* im Stande wäre, Ammoniaksalze zu Nitraten zu oxydiren oder den freien Stickstoff der Atmosphäre als Körpereiweiss festzulegen, so schien es mir doch geboten, darüber durch Versuche Sicherheit zu erlangen. Besonders Berthelot's Angaben [1]), nach welchen Bodenmikroben eine Stickstoffanreicherung der Bauerde verursachen, erweckten mein Interesse in dieser Beziehung. Die Resultate sind jedoch bisher alle negativ geblieben.

Die Salpeterbildung wurde versucht in salpeterfreien Nährlösungen, sowie in Agarnährboden, worin ausser Salzen entweder schwefelsaures Ammon oder Asparagin als Stickstoffträger vorkamen. *Bacillus Radicicola* var. *Fabae* und *Bac. Rad.* var. *Cytisi* entwickelten sich bei diesen Versuchen, welche bei 25° C. stattfanden, sehr üppig, am Ende war jedoch, weder in der Nährlösung noch in dem Agar, Salpetersäure oder Salpetrigesäure nachzuweisen. Da ferner mit aufgeschwemmten, getödteten Bacterien die Blaufärbung mit Diphenylamin und Schwefelsäure ebenfalls ausblieb, so lag auch eine Nitratbildung in der lebenden Substanz sicher nicht vor. Ich muss daraus schliessen, dass *Bacillus Radicicola* nicht identisch mit den Salpeterbacterien von Schlösing und Müntz sein kann. Ebensowenig wurde Stickoxydul (oder freier Stickstoff) durch *Radicicola* aus Ammonverbindungen oder Asparagin in irgend erheblichen Quantitäten abgespalten, denn bei besonders dafür eingerichteten Versuchen, wobei Luft zutreten konnte, war die Entstehung von Gasblasen innerhalb der Nährgelatine niemals bemerkbar.

Anderseits war es auch, wie gesagt, nicht möglich die Bindung des freien Stickstoffs überzeugend nachzuweisen. Bei der Bestimmung des Stickstoffgehaltes nach Kjeldahl's Methode eines Nährbodens, welcher nur den Stickstoff des Agars enthielt, übrigens nur stickstofffreie Nährstoffe und Salze führte, hatte nach vierzehn Tagen der Stickstoffgehalt zwar zugenommen, allein innerhalb der Grenzen der Beobachtungsfehler [2]). Das Wachsthum der für die Agarculturen verwendeten Goldregenbacillen war allerdings ziemlich üppig, kam jedoch bald zu Ende und zeigte keine Erscheinung, welche nicht auf Grund der bereits vorhandenen Stickstoffverbindungen zu

---

[1]) Comptes rendus, T. 106, p. 569, 1888.

[2]) Die Stickstoffbestimmungen wurden für mich ausgeführt durch die Herren Chemiker Kalt und Wysman. Die Mittheilung der analytischen Belege dieser Versuche erscheint dem negativen Resultate gegenüber überflüssig.

erwarten gewesen wäre. Die Untersuchung einer Nährlösung mit Salzen und etwas Asparagin mit Fababacillen, welche darin sehr üppig gewachsen waren und Membranstücke erzeugt hatten, veranlasst mich ebenfalls den Bacterien das Vermögen den freien Stickstoff in irgend einem erheblichen Maasse zu binden, abzusprechen.

So viel steht fest, dass eine Stickstoffassimilation, welche sich in Bezug auf die Schnelligkeit mit den gewöhnlichen Bacterienwirkungen vergleichen lässt, hier nicht vorliegt. Dagegen ist die Möglichkeit einer sehr langsamen Bindung, welche erst nach Monaten merkbare Resultate erzeugen könnte, noch nicht wiederlegt, und diese Erwägung, in Verbindung mit Berthelot's neuesten Angaben[1]), lässt die Fortsetzung dieser Versuche erwünscht erscheinen, wenn nicht, wie Frank vermuthet, die Vegetation der grünen Pflanzen überhaupt, speciell der Papilionaceen, mit Stickstoffverarbeitung verknüpft sei. Falls letzteres nicht zutrifft und irgend eine bestimmte Mikrobe bei diesem Prozesse fungirt, so würde sich empfehlen, anstatt Agar oder Nährlösung entweder wohl oder nicht mit *Bacillus Radicicola* inficirten Gartenboden als Versuchsmaterial zu verwenden.

Da meine Untersuchungen ferner ergeben haben, dass die ursprüngliche Infection nur zu einer ganz unbedeutenden Vermehrung der Körpersubstanz der Pflanze Veranlassung geben kann, und eine fortwährende Einwanderung von Bacillen in die Knöllchen, wie ich aus der Undurchdringlichkeit der Rinde schliesse, nicht stattfindet, — da endlich, wie Tschirsch betont hat, an die directe Absorption gelöster Stickstoffverbindungen aus dem Boden durch die Knöllchen kaum gedacht werden kann, weil dieselben durch die collenchymatisch verdickte Rinde eher darauf eingerichtet erscheinen, das Eindringen gelöster Stoffe vorzubeugen, — so schliesse ich aus diesen gesammten Daten, dass der Nutzen der Bacterien — und deshalb der Bacteroiden — auch nicht auf einer Stiffstoffanhäufung auf Kosten von aussen in die Knöllchen einwandernder Stoffe beruhen kann.

Wie verhält sich *Bacillus Radicicola* nun aber hinsichtlich der Nährstoffe, welche schon in der Pflanze gegenwärtig sind?

In Bezug auf diese Frage führten mehrere Versuche zu dem Resultate, dass unser *Bacillus*, im Gegensatze zu dem pflanzlichen Protoplasma, auf Kosten von Asparagin ohne die Gegenwart von Kohlenhydraten üppig zu wachsen, — das heisst diesen Körper in eine Proteinsubstanz umzubilden vermag. Der Beweis dafür lässt sich sehr leicht und überzeugend darthun. Eine Nährlösung, von der Zusammenstellung der Cohn'schen Normalflüssigkeit, in welcher das Ammontartrat ersetzt ist durch Asparagin[2]), ist ein ganz vorzügliches Nährmittel, worin bei 25 °C. schnell Trübung und Häutebildung sichtbar werden.

Besonders bemerkenswerth wird diese Beobachtung durch die weitere Erfahrung, dass die Cohn'sche Nährlösung ebensowenig als solche, wie nach der Neutralisation für das Wachsthum der Wurzelbacillen geeignet ist, sodass Eiweissbildung auf Kosten von Ammontartrat nicht stattfindet. Auch die Salze mit Rohrzucker und Salpeter, oder Salze, Rohrzucker und schwefelsaures Ammon erlauben nur ein engbegrenztes Wachsthum. Auch frisches Eieralbumin ist kein Nährmittel weder bei Zimmertemperatur noch bei 30° C.

---

[1]) Comptes rendus, T. 107, p. 372, 1888.

[2]) Also von dieser Zusammenstellung: 100 gr Wasser, 1 Asparagin, 0,5 Kaliumphosphat, 0,5 Magnesiumsulfat und 0,05 Calciumphosphat.

Aus diesen Bewandtnissen in Verbindung mit der oben angegebenen Erfahrung, dass besondere Spaltungs- oder Absonderungsproducte von *Bacillus Radicicola* überhaupt nicht nachgewiesen werden konnten, geht hervor, wie gering die chemischen Affinitäten dieser Bacterie sein müssen.

Die Symbiose der Papilionaceen mit den Wurzelbacillen wird desto auffallender, wenn man die genannten Nährbedingungen vergleicht mit denjenigen naheverwandter Formen, z. B. des saprophytisch in absterbenden Knöllchen vorkommenden *Bacillus fluorescens*, welcher mit Leichtigkeit auf Kosten von Ammontartrat als alleinige Stickstoffquelle leben und schnell wachsen kann.

Dass *Bacillus Radicicola* in Lösungen, worin ausser den Salzen Rohrzucker und Ammontartrat zu gleicher Zeit vorkommen, sich üppig vermehrt, war zu erwarten; dieses kann jedoch nicht eine besondere biologische Bedeutung beanspruchen, denn auch das pflanzliche Protoplasma kann sich damit vollständig ernähren.

Es ist jedoch nicht unwichtig zu bemerken, dass 1 % Traubenzucker oder Rohrzucker, auch bei Asparagingegenwart das Wachsthum von *Bacillus Radicicola* sehr fördert, sodass es wahrscheinlich ist, dass bei gleichzeitiger Gegenwart von Asparagin und Traubenzucker die Wurzelbacillen dem nämlichen Ernährungschemismus wie das pflanzliche Protoplasma unterworfen sind.

Ueberblicken wir die sämmtlichen, meistentheils negativen Daten, welche in Bezug auf die chemischen Ernährungsbedingungen unserer Bacterie angeführt sind, so erscheinen dieselben in guter Uebereinstimmung mit dem ausserordentlich complicirten Falle von Symbiose, welcher in den Knöllchen vorliegt. Wenn die lebende Pflanzenzelle Nutzen von einem anderen Organismus ziehen soll, welcher, wie im vorliegenden Falle, als Theil des Protoplasmas auftritt, so muss ein subtiles Gleichgewicht zwischen Wachsthum von beiden möglich sein. Nun scheint es mir kaum denkbar, dass eine Bacterie, welche so starke chemische Affinitäten hätte, dass dadurch atmosphärischer Stickstoff assimilirt, oder Ammonsalze in Nitraten verändert werden könnten, für die Erhaltung eines solchen Gleichgewichtes geeignet wäre, dafür kann nur ein Organismus, wie *Bacillus Radicicola*, der dem Protoplasma der Papilionaceen in seinen chemischen Qualitäten überhaupt nicht fern steht, in Betracht kommen.

In denjenigen Organen, wo das Licht nicht direct zur Bildung von Kohlenhydraten führen kann, wie in den Wurzeln, erscheint es nützlich, wenn das Protoplasma, auch ohne Mithülfe des Lichtes Eiweiss bilden kann. Das dürfte jedoch nach den Untersuchungen von Pfeffer für das Protoplasma der höheren Pflanzen an sich unmöglich sein [1]). Die so hoch organisierte Familie der Papilionaceen vermag nun dafür eine Bacerie zu verwenden, mit sehr wenig ausgesprochenen chemischen Eigenschaften, welche streng aerobisch ist und nicht gährt, keine Säuren, keine Amide, keine besonderen Oxydations- oder Reductionsproducte erzeugt, welche allein auf Kosten von Asparagin, auch im Dunkeln sehr üppig wachsen, das heisst Eiweiss erzeugen und athmen kann. Von der übrigens kaum abweisbaren Annahme ausgehend, dass die Bacteroiden, das heisst, die in dem Cytoplasma eingeschlossenen Bacterien, dem nämlichen Chemismus in Bezug auf Athmung und Wachsthum gehorchen, wie die freilebenden Bacterien, und bei dem wohl niemals fehlenden Asparagingehalte der

---

[1]) Pflanzenphysiologie, Bd. 1, p. 208, 1881.

Wurzeln muss als sicher betrachtet werden, dass der genannte Vorgang in den Knöllchen stattfinden kann.

Anderseits lehrt die kräftige Förderung des Wachsthums von *Bacillus Radicicola* durch Zucker, dass auch dieser Stoff bei der Bacteroidenbildung in Anspruch genommen werden wird, so dass die Leichtigkeit der Eiweissbildung vermittels der Bacteroiden für die Papilionaceenwurzel gross sein muss.

Entsteht das Eiweiss nur aus Asparagin, so müssen wir fragen, welche Nebenproducte dabei erzeugt werden, und in wiefern dieselben für die Pflanze eine Bedeutung besitzen können. Ich kann in Bezug darauf nur negative Angaben machen: freien Stickstoff oder Sauerstoff, Stickoxydul oder höhere Stickstoff-Sauerstoffverbindungen suchte ich ebenso vergebens, wie kohlensaures Ammon und Cyanverbindungen. Die Frage ist deshalb noch offen geblieben.

Nichtsdestoweniger scheint mir die Sicherheit, womit das Knöllchenplasma, vermittels der Wurzelbacillen selbst bei Mangel an Kohlenhydraten Eiweiss erzeugen kann, nützlich zu sein, bei normaler Entleerung für die Nährpflanze, bei der Bacterienerschöpfung für *Bacillus Radicicola*.

TAFEL-ERKLÄRUNG.

Bewegung überall durch Pfeilchen angegeben.

Fig. 1 (10). Ein Knöllchen von *Vicia sativa* neben einer Seitenwurzel *sw* an der Tragwurzel *mw*.

Fig. 2 (10). Vier Querschnitte durch das Knöllchen Fig. 1, den Querlinien *2a*, *2b*, *2c* und *2d* entsprechend; *pr* primäre Rinde mit Rindenbacteroiden *rb*, *en* Endodermis, *hg* hyalines Gewebe, *sc* secundäre Centralcylinder (Gefässbündelchen), *xl* deren Xylembündel, *bact* Bacteroidengewebe.

Fig. 3 (10). Querschnitt durch eine dünne Wurzel von *Vicia Faba* mit einem Knöllchen und einer Seitenwurzel. Die Bacteroiden durch Punktirung angegeben. Das Knöllchen hat ruhendes Meristem *ms*. *rb* Rindenbacteroiden, *xl* ein Xylembündelchen in dem hyalinen Gewebe *hg*, *bact* Bacteroidengewebe, *kl* »Knöllchenkern« mit Rindenbacteroiden, *eb* Epidermisbacteroiden, *wk* Bacteroiden des Wurzelkernes.

Fig. 4 (225). Querschnitt durch ein secundäres Centralcylinderchen im hyalinen Gewebe eines Knöllchens von *Cytisus Laburnum*; *en* Endodermis des allgemeinen Centralcylinders; *pc* Pericambium, *se* Endodermis des secundären Centralcylinders, *xl* Xylem, *ph* Phloëm.

Fig. 5 (600). Actives Meristem eines Knöllchens von *Lathyrus Aphaca* mit normaler Bacteroidenbildung.

Bei α Meristemzellen mit Kernen, Schleimfäden, Mikrosomen und Bacterien.
Bei β werden die Bacterien hyalin und bleiben nur die Mikrosomen sichtbar.
Bei γ fangen die Bacterien an, sich zu Bacteroiden zu differenciren.
Bei δ junge normale Bacteroiden, im Protoplasma eingeschlossen.

Fig. 6 (600). Actives Meristem eines in Bacterienerschöpfung begriffenen Knöllchens von *Pisum sativum* mit abnormer Bacteroidenbildung.

Bei α Meristem mit Kernen, Schleimfäden (Kerntonnenfäden), Mikrosomen und Bacterien.
Bei β zahlreiche Bacterien selbst im Zellsaft sichtbar.

Bei γ, an der linken Seite der Figur Zellen, worin Zellkern und gesammtes Cytoplasma zu Schleimfäden (Kerntonnenfäden) geworden sind, übrigens in diesen Zellen viel Bacterien in Ruhe oder beweglich. Rechts in der Figur Zellen mit Cytoplasma und Zellsaft, beide mit Bacterien.

Bei δ ausgewachsene abnorme Bacteroiden, Bläschen und Bacterien im reifen Bacteroidengewebe.

Fig. 7 (400). Schnitt durch das Bacteroidengewebe von *Lathyrus sylvestris* nach Färbung der Kerne mit 1 % Chromsäure und Methylenblau. Die Schleimfäden (*schl*) (Kerntonnenfäden) contrastiren scharf zum Cytoplasma. Das Kernkörperchen liegt in einer Vacuole des Kernes, *mi* Mikrosomen, *bact* Bacteroiden, *hp* hyalines Protoplasma, *am* Amylum.

Fig. 8 (700). Netzartige Anordnung der Bacteroiden im Protoplasma bei *Vicia Faba*.

Fig. 9 (800). *Bacillus Radicicola* var. *Fabae*. Die Schwärmer mit (*schw*) bezeichnet.

a. Normale Bacteroiden.
b. Bacteroiden mit Oeltropfen; *pb* primäres, *sb* secundäres »Bläschen«.
c. Bacterien einer kleinen Colonie auf Fabastengelgelatine.
d. Bacteroiden einer sehr kleinen Colonie auf Fabastengelgelatine.
e. Bacterien in Fabastengeldecoct-Nährflüssigkeit.

Fig. 10 (700). *Bacillus Radicicola* var. *Trifoliorum*.

a. Normale birn- und kugelförmige und abnormale bläschenförmige Bacteroiden.
b. Bacterien einer kleinen Colonie auf Fabastengelgelatine mit zahlreichen Schwärmern *schw*.

Fig. 11 (700). *Bacillus Radicicola* aus *Vicia hirsuta* (aus Dünensand).

a. Normale und verzweigte und abnormale bläschenförmige Bacteroiden.
b. Bacterieller Zellinhalt des Bacteroidengewebes eines grossen Knöllchens mit Bacterienüberwucherung, viele Schwärmer und secundäre Bläschen zwischen den Stäbchen, welche selbst herumschwimmen.
c. Bacterien einer kleinen Colonie auf *Vicia*stengelgelatine.

Fig. 12 (700). *Bacillus Radicicola* aus *Pisum sativum*.

a. Normale Bacteroiden.
b. Bacterien in Fabastengeldecoct-Nährgelatine.
c. Zellinhalt in Erschöpfung begriffenen Bacteroidengewebes mit Stäbchen, Schwärmern und Bläschen.

Fig. 13 (700). *Bacillus Radicicola* aus *Robinia Pseud-Acacia*.

a. Bacteroiden.
b. Bacterien einer gewöhnlichen Colonie auf Fabastengeldecoctgelatine.

Fig. 14 (700). Bacteroidenentwicklung aus Bacterienkeimen im activen Meristem von *Vicia sativa*.

a. Das jüngste Stadium, dem Querschnitt Fig. 1 *14a* entsprechend.
b. Zweites Stadium, dem Querschnitt Fig. 1 *14b* enesprechend.
c. Drittes Stadium, dem Querschnitt Fig. 1 *14c* entsprechend.
d. Ausgewachsene Bacteroiden, dem Querschnitt Fig. 1 *14d* entsprechend.

Fig. 15 (700). Ausnahmsweise bewegliche Bacteroiden aus *Lathyrus Aphaca*; gewöhnlich bei dieser Pflanze kurz, dick und ruhend.

Fig. 16 (700). Die stark verzweigten Bacteroiden von *Lathyrus Ochrus*.

Fig. 17. Impfstriche von *Bacillus Radicicola* auf Fabastengeldecoctgelatine in Glasdose; *gd* nach unten gekehrter Glasdeckel, auf einer etwas erwärmten Fläche liegend, *kl* Reihe von Colonien auf der Gelatineschicht *ge*.


Fig 1.(3)
Fig 2 (10)
Fig 3.(10)
Fig 4 (225)
Fig 5 (600)
Fig 6 (600)
Fig 7 (400)
Fig 8 (100)
Fig 9 (800)
Fig 10 (700)
Fig 11 (700)
Fig 12 (700)
Fig 13 (700)
Fig 14 (700)
Fig 15 (700)
Fig 16 (700)
Fig 17

Over kruisingsproeven met Kultuurgerst.

Verslagen en Mededeelingen der Kon. Akademie van Wetenschappen, Amsterdam, 3de Reeks, Deel V, 1888, blz. 202.

De Heer Beijerinck deelt de uitkomst mede van kruisingsproeven met Kultuurgerst (*Hordeum vulgare, H. hexastichon, H. distichon, H. Zeocriton* en *H. trifurcatum*), sedert 1884 door hem in het groot genomen, en heldert zijne voordracht op door gedroogde voorwerpen en andere op spiritus. Hij beschrijft de voorzorgen, bij die kruisingsproeven te nemen, en leidt uit zijne proeven deze gevolgtrekkingen af:

1°. al de hierboven genoemde soorten van Gerst laten zich gemakkelijk door elkander bevruchten;

2°. de daardoor verkregen bastaarden zijn zeer volkomen zelf-fertiel; die tusschen *H. vulgare* (vr.) en *H. distichum* (m.) en die tusschen *H. vulgare* (vr.) en *H. Zeocriton* (m.) zelfs kleistogaam;

3°. de bastaarden der 1ste generatie zijn over 't algemeen middelvormen tusschen de beide ouders. Eene uitzondering op dien regel vormden die van *H. nudum* (vr.) en *H. trifurcatum* (m.), welke voor een groot deel bleken te behooren tot den niet verwachten gewonen *intermedium*-vorm (den tusschenvorm tusschen *H. vulgare* en *H. distichum*). Enkele exemplaren behoorden tot den wèl verwachten *cornutum*-vorm;

4°. de zaailingen, uit bastaarden door zelfbevruchting ontstaan, zijn zeer veranderlijk. De spreker verkreeg, behalve enkele reeds bekende, eenige geheel nieuwe verscheidenheden. Zeer merkwaardig was, dat de 3de generatie eener kruising van *H. vulgare* (vr.) en *H. Zeocriton* (m.) hem *H. hexastichon* opleverde;

5°. in den loopenden zomer werd uit de in 1884 uitgevoerde kruising tusschen *H. distichum* (vr.) en *H. trifurcatum* (m.) een bijna volkomen ongenaalde vorm geteeld.

L'auxanographie.

ou la méthode de l'hydrodiffusion dans la gélatine appliquée aux recherches microbiologiques.

Archives Néerlandaises des Sciences Exactes et Naturelles, Haarlem, Tome XXIII, 1889, p. 367—372. — Verschenen onder den titel: »Over een middel om de werking van verschillende stoffen op den groei en enkele andere levensverrichtingen van micro-organismen vast te stellen« in Verslagen en Mededeelingen der Kon. Akademie van Wetenschappen, Afd. Natuurkunde, Amsterdam, 3de Reeks, Deel VI, 1889, blz. 123—126

Pour l'étude des phénomènes biologiques des microorganismes [1]), il importe évidemment avant tout d'acquérir des notions certaines concernant les matières qui peuvent servir à leur développement et à leur multiplication. A la vérité, quand on trouve des formes nouvelles, il est ordinairement facile de décider quel mélange de matières nutritives en a rendu, dans le cas donné, la découverte possible; l'établissement de cultures permanentes, dans des mélanges analogues, ne présente alors aucune difficulté. Mais lorsque, pour des espèces déterminées, on veut obtenir une connaissance plus approfondie des matières assimilables, on se heurte à toute sorte d'obstacles. Jusqu'ici, on cherche habituellement à résoudre la question en introduisant les substances à étudier dans le liquide ou la gélatine employés pour la culture, et en déterminant ensuite, par la pesée ou le dénombrement des cellules, ou par l'estimation de l'étendue des colonies ou des lignes d'inoculation, la quantité de matière vivante nouvellement formée. L'examen des publications spéciales montre combien sont rares les résultats avérés obtenus de cette manière. A quelle pauvre moisson est-on réduit, par exemple, en étudiant les nombreux mémoires qui ont été écrits sur les phénomènes de la nutrition de la levure de bière et du ferment du vin! A part les découvertes classiques de Pasteur et de Cohn sur les éléments inorganiques nécessaires et sur la nature des matières azotées assimilables pour quelques espèces déterminées de levûres, de bactéries et de mélanges de bactéries, les nombreuses observations disséminées des auteurs postérieurs, qui se sont occupés de ce sujet, ne donnent que très exceptionnellement une satisfaction complète. Souvent le mode opératoire était trop compliqué pour que l'expérience pût être facilement répétée; d'autres fois, le contrôle de la pureté durable des cultures n'offrait pas de garanties suffisantes; souvent il restait des doutes quant au bon choix de la concentration employée pour les matières soumises à l'examen; ou bien, enfin, les conditions dans lesquelles se faisait la comparaison de matières différentes n'étaient pas identiques sous tous les autres rapports. L'application du procédé que je vais décrire et qui s'appuie sur la connaissance de deux propriétés simples des »terrains de culture« [illegible]

[1]) Conformément à l'usage actuellement établi, j'entends par »microorganismes« les formes qui [illegible] cultivées dans une gélatine nutritive.

solides : pour microorganismes [illegible] des infusions fermentables. Les deux premiers [illegible] (Frank). La gélatine et la gélose (agar-agar) [illegible] pour la plupart des microbes. [illegible] de gélatine et de gélose, [illegible] de la même manière que dans l'eau [illegible] principes.

Tous les bactériologues savent que la gélatine et la gélose [illegible] dans l'eau distillée [illegible] et les levures, et même pour les moisissures. Cela tient [illegible] gélatine elle-même n'est pas assimilable pour la plupart des microbes [illegible] est presque uniquement [illegible] peptones, mais aussi à l'absence [illegible] inorganiques nécessaires, notamment du phosphate de potassium, et des aliments non azotés, tels que [illegible] hydrates de carbone. La gélatine [illegible] dissoute dans l'eau distillée [illegible] cendres, et l'azote assimilable [illegible] quantité insuffisante pour rendre possible [illegible] sensible l'accroissement de la plupart des microorganismes. [illegible] à deux, ces trois groupes de composés sont [illegible] des microbes disséminés dans la gélatine. Pour qu'il y ait accroissement, les trois groupes de substances nutritives doivent [illegible]

Si donc on sème une espèce [illegible] dans une gélatine à laquelle manquent les éléments des cendres, [illegible] favorables, mais dépourvus de [illegible] fois, à la surface d'une couche de pareille gélatine, une [illegible] reconnus indispensables, alors, au bout de peu de temps, chacun des germes disséminés dans le champ de diffusion de ces sels commence à se développer en une colonie, et il se forme en conséquence, sur le fond [illegible] de la gélatine, une aire opaque circulaire, nettement [illegible] que je veux appeler un *auxanogramme*; j'ai choisi le mot *auxanographie* pour marquer [illegible] la méthode elle-même.

D'après ce qui a été dit plus haut il est [illegible] de petites modifications on peut donner à cette expérience [illegible] c'est ce que fera encore mieux ressortir l'exemple [illegible]

Le ferment ordinaire [illegible] de phosphate de potassium [illegible] la gélatine pure dans l'eau et y ajoutant un nombre [illegible] ce qui ne fait nullement [illegible] après coagulation [illegible] la condition [illegible] le développement des cellules de ferment [illegible] (1). Place-t-on main-

(1) Après dix [illegible] distillée elle-même [illegible] mais le ferment de vin [illegible]

tenant à la surface de cette gélatine une goutte d'une solution contenant de la glucose et de l'asparagine, puis à une certaine distance une goutte de phosphate de potassium, et abandonne-t-on le tout à lui-même pendant quelques jours, voici ce qu'on observe en général. Ni l'aliment organique à lui seul, ni le phosphate seul, n'a été capable de faire développer les cellules en colonies; mais, là où le champ de diffusion du phosphate de potassium coïncidait avec celui de la glucose et de l'asparagine, toutes les conditions du développement se trouvaient réunies, et par suite il apparait en cet endroit, sur le fond gélatineux transparent, une figure lenticulaire opaque, de couleur jaunâtre. Cette figure est composée des colonies du ferment, devennues maintenant bien distinctes.

Si à la surface d'une gélatine préparée comme ci-dessus, mais préalablement additionnée d'une quantité suffisante de phosphate de potassium, on dépose, à quelque distance l'une de l'autre, des gouttes de glucose seule et d'asparagine seule, une figure opaque se forme, au bout d'un certain temps, dans le champ diffusif commun de ces deux substances, qui, chacune à part, sont inactives.

Place-t-on, enfin, sur un substratum de gélatine contenant à la fois du phosphate de potassium et un hydrate de carbone, des matières azotées dont il s'agit d'étudier l'assimilabilité, alors on voit les colonies de ferment dessiner, sur le fond transparent, soit un champ opaque circulaire, soit une figure annulaire. Lorsque, au contraire, la matière essayée n'est pas assimialable, son champ de diffusion reste parfaitement clair.

Réciproquement, en ajoutant préalablement au sol les substances azotées nécessaires, on peut déterminer, d'une manière analogue, quelles matières non azotées sont aptes à produire le développement. Ici encore, quand la matière en question est assimilable, les colonies ou bien se distribuent uniformément dans le champ de diffusion, ou bien s'y placent en anneau.

La disposition annulaire des colonies est la preuve qu'au centre des champs de diffusion la concentration des matières étudiées était trop forte, ce qui a empêché le développement ou occasionné la mort des germes. Dans ces anneaux on remarque d'ailleurs encore des accroissements et décroissements du nombre des colonies dans la direction des rayons, variations qui doivent dépendre d'actions particulières des matières diffusées.

Quand on fait usage de gélatine renfermant, outre l'organisme, tous les matériaux nutritifs nécessaires, de sorte que les colonies pourraient s'y développer partout uniformément, il est facile, par l'application de substances toxiques ou antiseptiques, d'obtenir de celles-ci des champs de diffusion clairs, sur un fond devenu trouble tout autour.

Si, l'expérience terminée, on traite le sol de culture par l'un ou l'autre dérivé de l'aniline, colorant bien les cellules, mais non la gélatine, il en résulte, après dessiccation, des préparations de valeur durable. La simple dessiccation peut même fournir ce résultat, lorsque les espèces étudiées ne sont pas trop transparentes. Il suffit d'humecter ces préparations pour les ramener à l'état originel.

Finalement, je ferai remarquer que le principe ici énoncé est encore susceptible d'une autre application, moins étendue, il est vrai. Il s'agit des cas où un organisme exécute, seulement sous l'influence de matières déterminées, une certaine fonction directement visible ou facile à mettre en évidence par voie chimique;

des cas, par exemple, où il excrète un acide ou un enzyme, forme un pigment ou émet de la lumière, toutes actions qui ne sont pas nécessairement liées à l'accroissement. Dans ces cas, on peut également, à l'aide d'un substratum de gélatine, où l'organisme est contenu en grande quantité sans y produire l'action en question, décider, par l'application des matières à étudier, si elles donnent lieu, oui ou non, à la manifestation du phénomène.

J'ai examiné de cette manière, non sans succès, l'influence de substances variées sur l'émission de lumière et la sécrétion d'acide par le *Photobacterium phosphorescens*, ainsi que sur la sécrétion de pigment par le *Vibrio cyanogenus*, l'organisme du lait bleu. Plus tard, j'espère pouvoir revenir sur ce sujet.

Comme on le voit, la méthode décrite fournit un moyen simple d'étudier les manifestations vitales des microbes sous l'influence de certaines matières, sans qu'on ait besoin de connaître les degrés de concentration le plus favorables de ces matières, connaissance presque indispensable pour la réussite des cultures faites dans des liquides. Lorsque, par mon procédé, la concentration a été localement portée trop loin, la diffusion dans la gélatine travaille constamment à diminuer cette concentration et à produire quelque part un champ annulaire aux proportions les plus favorables; on obtient alors, comme il a déjà été dit plus haut, une tache de cellules mortes ou arrêtées dans leur croissance ou dans leurs autres fonctions, tache entourée d'un anneau de colonies actives. En outre, la méthode de diffusion dans un sol solide laisse peu d'incertitude quant à la pureté des cultures, et si l'on emploie des plaques de gélatine de grandes dimensions, plusieurs matières différentes peuvent être portées simultanément sur le même sol, ce qui rend naturellement identiques, pour toutes ces matières, les autres influences, telles que variations de température, alternatives de lumière et d'obscurité, apport d'oxygène ou évaporation d'acide carbonique et d'eau.

Le photobacterium luminosum,

bactérie lumineuse de la mer du nord.

Archives Néerlandaises des Sciences Exactes et Naturelles, Haarlem, T. XXIII, 1889, p. 401—415. — Verscheen onder den titel: »Photobactérium luminosum, een lichtbacterie van de Noordzee« in Maandblad voor Natuurwetenschappen, Amsterdam, 16e Jaargang. 1889, blz. 1—10.

Ayant à décrire une bactérie photogène non remarquée jusqu'ici, je crois nécessaire, vu l'état d'imperfection où se trouve la littérature à l'égard de ce groupe des formes[1]), d'exposer préalablement ce qui est connu quant à l'existence, d'espèces différentes de bactéries lumineuses. Comme il ne m'a pas été possible d'établir, entre les cinq (ou six) espèces que j'ai étudiées, de dinstinctions assez importantes pour autoriser quelque séparation générique, et comme, d'un autre côté, le besoin se fait sentir de pouvoir facilement désigner par un nom ces organismes si intéressants, je me hasarde à les rapporter toutes au genre *Photobacterium.* En ci qui concerne les différentes espèces trouvées jusqu'à ce jour, ce sont les suivantes:

1. *Photobacterium phosphorescens,* la bactérie lumineuse ordinaire, non liquéfiante, de poisson phosphorescent. Au sujet du droit d'auteur pour ce nom généralement employé, il règne des doutes (Cf. Pflüger, *Archiv.,* T. 10 et 11, 1874 et 1875; Lassar, Pflüger's *Archiv,* T. 21, 1880, Ludwig, *Zeitschrift für Mikroskopie,* T. 1, 1884; Tilanus, *Tijdschr. v. Geneeskunde,* T. 2, p. 169, 1887; Forster, *Bacteriol. Centralblatt,* T. 1, p. 337, 1887)[2]).
2. *Ph. Indicum,* bactérie lumineuse de la mer des Indes occidentales; découverte et décrit par Fischer, *Zeitschr. f. Hygiene,* T. 2, p. 54, 1887, sous le nom de *Bacillus phosphorescens.*
3. *Ph. Fischeri,* bacterie lumineuse de la mer Baltique; découverte et décrite par Fischer, *Bacteriol. Centralbl.,* T. 3, p. 105, 1888.
4. *Ph. luminosum,* nommée ici pour la première fois.

A ces quatre espèces doivent s'ajouter deux espèces non encore décrités de la Baltique, proches alliées du *Ph. Fischeri,* et d'ont l'une fait fondre légèrement la gélatine de culture, tandis que l'autre ne la liquéfie pas. Peut-être qu'à un examen approfondi elles seront reconnues pour des variétés de *Ph. Fischeri.*

Les raisons qui me portent à croire que toutes[3]) les espèces ci-dessus nommées doivent être reunies en un même genre, sont les suivantes:

---

[1]) Cf. Macé, *Traité pratique de Bactériologie,* p 585, Paris 1889.

[2]) Au point de vue de la *priorité,* il faudrait employer, pour la bactérie lumineuse ordinaire, le nom de *Micrococcus phosphoreus* Cohn (*Verzameling van stukken betreftende het Geneeskundig Staatstoezicht in Nederland,* 1878, p. 126), mais l'*usage* a décidé en faveur de *Ph. phosphorescens.*

[3]) J'ai étudié en détail et pendant longtemps les espèces 1, 2 et 4, mais d'une manière plus rapide l'espece 3, pour laquelle des matériaux m'avaient été communiqués par M le professeur Fischer, et que moi-même j'ai, une fois, isolée d'un poisson de mer. Les deux autres formes, non décrites, ont également été en ma possession par la bonté de M. Fischer.

1. Toutes croissent le mieux, ou même exclusivement, lorsque l'aliment contient $3^1/_2$°/o de sel marin ou des proportions isotoniques d'autres sels minéraux. 2. Elles perdent leur pouvoir photogène par l'addition de 2°/o ou plus de glucose à l'aliment, et elles forment alors un acide, en prenant des figures très singulières. 3. La peptone est la source principale pour l'alimentation azotée; elles empruntent leur carbone à des solutions très diluées de glucose, de lévulose, de maltose, de galactose, de lactate calcique et surtout de glycérine, et cette assimilation s'accompagne de production de lumière. 4. Elles se développent dans un sol neutre ou faiblement alcalin, et une trace d'acide est déjà suffisante pour éteindre la lumière. 5. Jamais elles ne forment de spores; toutes peuvent être amenées par la culture à des états mobiles, qui nagent vers les sources d'oxygène, en prendre dans certaines conditions la forme de spirilles et de vibrions. 6. Aucune d'elles ne sécrète des enzymes diastasiques ou inversifs, de sorte que l'amidon soluble, le sucre de canne, le sucre de lait ne peuvent pas servir à leur nutrition ni à la production de lumière, attendu que ces corps, comme tels, ne sont pas oxydés. 7. Toutes donnent un spectre lumineux continu, qui est situé entre les raies *D* et *G*, et où se trouvent donc du jaune, du vert et du bleu.

A côté de ces points d'analogie, il existe toutefois quelques différences importantes entre le *Ph. phosphorescens* et les autres espèces (j'ai ici plus articulièrement en vue les n$^{os.}$ 2 et 4, n'ayant pas encore étudié assez complètement les autres). Ces différences consistent surtout en ce que, de toutes ces espèces, le *Ph. phosphorescens* seul peut à l'abri de l'air faire fermenter la glucose, la lévulose, la maltose et la galactose, et ensuite que le *P. phosphorescens* ne sécrète pas d'enzyme protéolytique, ce que font bien les autres (à l'exception de l'une des deux formes non encore décrites). Plus loin, il sera encore dit quelques mots des différences de forme de ces espèces. Je passe maintenant, après cette brève introduction, à mon sujet proprement dit, la description du *Ph. luminosum*.

A la fin de l'été de 1888 j'ai examiné itérativement, avec attention, la phosphorescence de la mer entre Katwijk et Scheveningen. J'ignore si, en d'autres années, le phénomène est toujours exactement le même qu'à l'époque dont je parle, mais je présume que, le long de la bande littorale en question et probablement aussi plus au nord j'usqu'au Nieuwe-Diep, on pourra toujours observer, dans une étendue plus ou moins grande, ce que j'ai vu l'année dernière et dont voici les points essentiels.

La cause proprement dite de la lumière dégagée par les brisants de la vague et par le sable du rivage doit être cherchée dans des animaux microscopiques et des bactéries. A la vérité, quelques cœlentérés phosphorescents de taille plus considérable, tels que *Cydippe pileus*, *Phialidium variabile* et certaines espèces de *Sertularia* et de *Obelaria*, se recontrent aussi très généralement le long de la côte de la Mer du Nord, et les Phialidies surtout, pendant les chaudes soirées d'été, se voient par milliers sur la plage; mais, à la lumière des brisants, uniformément répandue sur de larges espaces, toutes ces formes plus ou moins grandes ne contribuent que très peu. Les animaux microscopiques que j'ai observés appartenaient pour la plupart à quelques espèces de Crustacés et de Dinoflagelles, dont la détermination ne m'a pas été possible; il s'y trouvait aussi, en petite quantité, le *Noctiluca miliaris*. C'est à ces animaux que doit être attribuée la projection carac-

teristique d'étincelles par les vagues qui se déroulent longuement sur le sable, ainsi que la brillante scintillation provoquée, dans les flaques d'eau de la plage, par une brusque agitation ou par la chute de gouttes de pluie. Mais l'éclairement dû à ces formes animales était, lui aussi, simplement local, et la lueur mate étendue sur l'écume des brisants devait, à en juger par un examen même superficiel, être rapportée à une cause différente. Comme telle je pus reconnaitre, après quelques recherches, une espèce de bactérie, nouvelle pour la science[1]. Avant de décrire cette espèce, à laquelle j'ai donné le nom de *Photobacterium luminosum*, je dois encore faire remarquer que non seulement l'eau de mer, mais aussi le sable du rivage, en tant qu'il est soumis au jeu du flux et du reflux, est pour ainsi dire entièrement pénétré d'une culture, et que la singulière auréole lumineuse, formée autour de chaque empreinte de pied et bien connue de tous ceux qui se promènent le soir sur nos plages, est due à la présence du *Photobacterium luminosum*[2]. Au reste, il m'est aussi arrivé une fois d'isoler cette bactérie d'une plie achetée au marché de Delft et devenue lumineuse dans mon laboratoire; la possibilité de la rencontrer plus à l'intérieur du pays ne se trouve donc pas entièrement exclue.

La manière la plus facile d'obtenir le *Photobacterium luminosum* en culture pure, est la suivante.

Dans l'obscurité du soir, après une chaude journée d'été, on cherchera une de ces flaques d'eau, que le retrait de la marée laisse sur la plage et qui ont été échauffées par les rayons du soleil. Au bord et au fond d'une pareille flaque, le sable est extrêmement riche en bactéries lumineuses et éminemment propre à l'ensemencement. Comme sol de culture se recommande spécialement un mélange de cette composition: décoction de poisson dans de l'eau de mer, additionnée de $1/2$ % de peptone et coagulée par 7 % de gélatine. Si l'on délaye le sable lumineux dans de l'eau de mer bouillie, et qu'avec une aiguille trempée dans ce mélange on trace des lignes sur la gélatine, ou si l'on verse sur celle-ci l'eau de mer qui surmonte le sable et qu'ensuite on laisse égoutter la gélatine jusqu'à ce que la surface soit devenue sèche, on verra, déjà au bout de 24 heures à une température d'été, soit dans les lignes soit dans la couche de colonies qui recouvre la gélatine, çà et là des groupes vivement lumineux. En faisant avec ceux-ci, de la manière ordinaire, de nouvelles cultures sur le même sol, on pourra se trouver, après une seconde journée, en possession d'une multitude de colonies isolées.

Le *Ph. luminosum* est du nombre des bactéries qui font diffluer très fortement la gélatine (fig. 4a, page 9). Lorsque cette fusion s'opère en présence de beaucoup de matière azotée, par exemple de $1/2$ % d'asparagine et $1/2$ % de peptone, il ne se développe pas de produits fétides; quand, au contraire, l'alimentation azotée

[1]) Des descriptions de témoins oculaires je dois inférer qu'à la Pointe méridionale de la Hollande, loin de la côte, jamais près du rivage, la phosphorescence du *Noctiluca miliaris* s'observe dans toute sa splendeur; à Scheveningen, à Katwyk, à Zandvoort, ce spectacle — si j'ai bien compris mes interlocuteurs — ne parait jamais se présenter. Cela, serait-il en rapport avec la circonstance que, dans les localités indiquées, l'eau de la Mer du Nord est moins riche en sel?

[2]) La rapidité avec laquelle notre bactérie se multiplie dans le sable, rapidité évidemment plus grande que dans l'eau de mer, s'explique peut-être par l'accroissement de la proportion de sel dans le sable, suite nécessaire de la dessiccation lors du reflux.

est insuffisante, il s'établit un processus de putréfaction, évidemment aux dépens de la gélatine. On peut aisément démontrer, de la manière suivante, que la liquéfaction est due à la sécrétion d'une substance particulière. Le *Ph. luminosum* croît rapidement et luit faiblement sur un sol de culture semblable au précédent, mais où la gélatine est remplacée par l'agar. Si dans ce sol d'agar on a porté en outre un peu de blanc d'œuf coagulé, de fibrine réduite en poudre fine, ou de sérum sanguin coagulé, et que sur cette plaque trouble on trace une large raie de *Ph. luminosum*, on voit, dans l'espace de quelques jours, se former un large champ hyalin autour et au-dessous de la culture de bactéries, par suite de la dissolution de l'albumine introduite dans l'agar. Creuse-t-on alors une petite cavité dans ce champ hyalin et remplace-t-on l'agar enlevé par de la gélatine, on ne tarde pas à voir celle-ci se liquéfier. L'examen micsroscopique apprend qu'aux endroits où ces actions se passent il n'existe pas trace de bactéries, de sorte qu'elles doivent tenir à la présence d'un enzyme facilement diffusible.

De même que les autres bactéries photogènes, le *Ph. luminosum* ne se développe que sur un sol neutre ou faiblement alcalin. Une très minime quantité d'acide suffit déjà à empêcher complètement la croissance et la production de lumière. Ce fait est remarquable, car, dans des conditions de culture peu favorables, par exemple en présence de glucose, notre bactérie sécrète elle-même de petites quantités d'acide, lesquelles mettent bientôt fin à l'émission lumineuse. Mais cette propriété est, elle aussi, commune aux autres bactéries photogènes que j'ai étudiées.

Sur la gélatine au bouillon de viande peptonisé et sur le sérum du sang, le *Ph. luminosum* ne se développe pas du tout. Ajoute-t-on, toutefois, 3 ou $3^{1}/_{2}$% de sel marin, de chlorure de potassium ou de chlorure de magnésium, alors le susdit sol devient également propre à la culture et la lumière peut y prendre la même intensité que sur les décoctions de poisson. Il me paraît certain, d'après des expériences faites sur le *Ph. phosphorescens*, que tout dépend ici de la grandeur des tensions osmotiques. Pour cette espèce, en effet, j'ai trouvé que des dissolutions de sels inorganiques très différents pouvaient, à la seule condition d'être isosmotiques à une solution de chlorure de sodium à 3%, entretenir le dégagement de lumière et même la croissance. Les matières organiques au contraire, telles que la glycérine et le sucre, se comportent tout autrement. De ces faits on doit conclure que la phosphorescence de la viande, des pommes de terre et d'autres substances organiques, sur laquelle la littérature fournit de nombreuses données, ne peut tenir à la présence du *Ph. luminosum* que l'orsqu'il y a, dans ces substances, une proportion suffisante de sel. Ce raisonnement s'applique aussi aux autres bactéries lumineuses connues jusqu'ici (*Ph. phosphorescens*, *Ph. Indicum* et les bactéries de la Baltique, *Ph. Fischeri*).

La forme du *Ph. luminosum* est très différente suivant la nature de l'aliment (fig. 4*b* et *d*). Lorsque celui-ci contient peu d'azote et d'hydrates de carbone, notre bactérie est en général très petite et d'une forme qui ressemble à celle des vibrions du choléra. Çà et là on remarque entre les bâtonnets des spirilles plus ou moins longs, et, en suivant attentivement ceux-ci dans le cours de leur existence, on les voit quelquefois se fractionner en courts vibrions. La courbure particulière des spirilles est cause que les produits de leur fractionnement ne sont pas, eux non plus, parfaitement droits: c'est là, dans le cas analogue des spirilles du choléra.

ce qui a donné lieu au nom de »bacilles en virgule«, donné par Koch à ses vibrions. Spirilles et vibrions se meuvent rapidement et cherchent l'oxygène libre au bord des préparations. Un développement sans oxygène libre est impossible, n'importe dans quelles conditions.

C'est ici le lieu d'indiquer en peu de mots les différences de forme existant entre les quatre espèces décrites jusqu'à ce jour. En présence de lextrême polymorphie à laquelle toutes sont sujettes, il est impossible, toutefois, de citer des différences morphologiques constantes, reconnaissables dans toutes les circonstances. Dans les conditions ordinaires de culture, c'est-à-dire, à une vive luminosité sur un sol qui ne soit pas trop riche, voici ce qu'on observe en général.

Le *Ph. phosphorescens* ordinaire, non liquéfiant (fig. 1*a* et *b*), possède alors la forme de vésicules arrondies ou un peu irrégulières, contenant souvent une inclusion plus foncée, qui se multiplie, par bipartition indépendante, en même temps que les bactéries; plus rarement, ce sont des bâtonnets plus ou moins longs, des bâtonnets doubles ou des diplocoques, dont quelques-uns, dans tous les cas, nagent lentement en divers sens. L'épaisseur des bâtonnets est d'environ 0,5 μ, la longueur d'environ 1 μ; les dimensions des cellules globuleuses sont très variables et oscillent entre 0,5 et 2 μ. En présence de la glucose, et surtout quand il y a présence simultanée de glucose et d'asparagine, les bâtonnets et globules se gonflent fortement et, par suite de la formation interne d'un acide, perdent complètement leur faculté lumineuse. Quelques bâtonnets montrent dans ces circonstances une tendance à se ramifier et prennent alors la forme de »bactéroïdes«, propre au *Bacillus Radicicola* des tubercules des Papilionacées.

Le *Ph. Indicum*, la bactérie lumineuse fortement liquéfiante de la mer des Indes occidentales (fig. 3*a* et *b*), ressemble beaucoup au *Ph. luminosum* en ce qui concerne l'aspect extérieur des colonies, mais l'intensité lumineuse est plus grande, et la teinte du liquide des colonies, liquide à surface légèrement concave[1]), est d'un gris plus cendré. La forme de cette bactérie à mouvements rapides est celle d'un bâtonnet droit à extrémités légèrement arrondies; on n'y voit qu'exceptionnellement des individus qui s'incurvent et se rapprochent de la forme des spirilles.

Le *Ph. Indicum* et le *Ph. luminosum* se comportent à peu près de la même manière vis-à-vis de l'oxygène: les états mobiles recherchent les sources de ce gaz: sans oxygène il n'y a pas ou presque pas de développement, le nitre n'est pas réduit, le bleu d'indigo l'est difficilement. L'optimum de température pour la croissance et la fonction lumineuse du *Ph. luminosum* se trouve vers 25 à 28° C, par conséquent, comme il était à présumer, plus bas que chez le *Ph. Indicum*, pour lequel cet optimum est situé, d'après mes expériences, vers 30 à 32°; aussi la rapidité du développement est-elle, chez le *Ph. luminosum*, notablement plus grande que chez le *Ph. Indicum*. Il n'est pas possible, toutefois, de donner à cet égard une règle générale, car les températures en question dépendent de la nature de l'aliment et de la proportion de sel.

Sur les changements de forme que ces deux bactéries subissent sous l'influence de la glucose mêlée à l'aliment, je reviendrai ci-dessous. Pour le moment,

[1]) L'excavation de la surface tient probablement à ce que de l'eau est soustraite à la colonie par la gélatine qui l'entoure.

Formes des bactéries lumineuses et de leurs colonies.

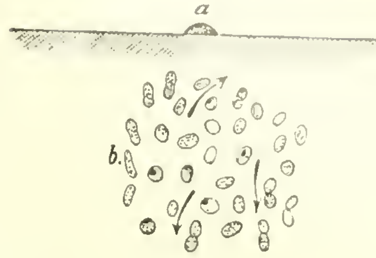


Fig. 1. *Photobacterium phosphorescens*, bactérie lumineuse ordinaire.

a. Colonie ordinaire sur gélatine de culture.
b. (800). Forme ordinaire des bactéries de la colonie *a*, vues dans l'eau de mer. Les flèches indiquent la mobilité.

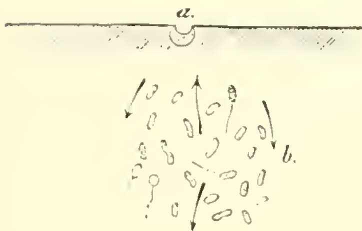


Fig. 2. *Ph. Fischeri*, bactérie lumineuse de la Baltique.

a. Colonie, faisant diffluer la gélatine avec surface concave.
b. (800). Forme ordinaire dans l'eau de mer.

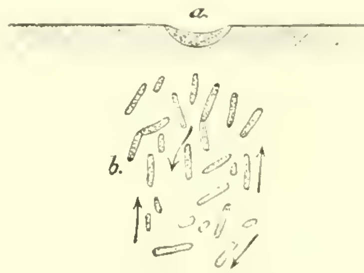


Fig. 3. *Ph. Indicum*, bactérie lumineuse de la mer des Indes occidentales.

a. Colonie.
b. (803). Forme dans l'eau de mer

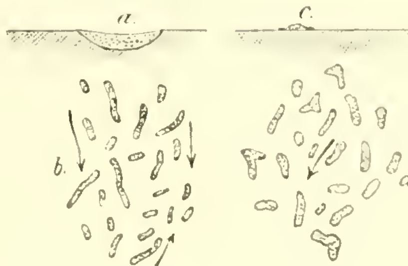


Fig. 4. *Ph. luminosum*, bactérie lumineuse de la mer du Nord.

a. Colonie ordinaire, diffluente.
b. (800). Forme des bactéries de la colonie *a*, vues dans l'eau de mer.
c. Colonie non diffluente, sous l'influence de la glucose.
d. (800). Forme des bactéries de la colonie *c*, vues dans l'eau de mer.

je dois encore dire un mot de la figure du bacille de la mer Baltique, *Ph. Fischeri* (fig. *2a* et *b*).

Partageant le pouvoir protéolytique avec les deux espèces nommées en dernier lieu, le *Ph. Fischeri* s'en distingue aisément par les très faibles dimensions des vibrions ou bâtonnets, qui nagent avec agilité; ces bâtonnets n'ont que de 0,1 à 0,3 μ d'épaisseur sur environ 1 μ de longueur, et jamais je n'ai vu parmi eux des filaments plus longs ni des spirilles, qui sont si caractéristiques pour les *Ph. Indicum* et *luminosum*, au moins dans les cultures encore jeunes. L'aspect extérieur des colonies, dont le pouvoir lumineux égale celui du *Ph. Indicum*, surpasse celui du *Ph. luminosum* et ne le cède qu'à celui du *Ph. phosphorescens*, est très particulier, à raison de la profonde excavation (fig. *2a*) que nous avons déjà appris à connaitre plus haut. En outre, notre bactérie est bien reconnaissable par le fait que ses cultures continuent très longtemps, sans aucun renouvellement du sol, à produire de la lumière; sous ce rapport, elle dépasse de quatre à six semaines les deux autres espèces liquéfiantes, qui au bout de 7 à 12 jours sont ordinairement tout à fait éteintes, et elle égale le *Ph. phosphorescens*. La lumière ne possède pas la belle teinte vert bleuâtre si caractéristique pour les trois espèces nommées en dernier lieu, mais elle tire plus sur l'orangé et son éclat est moins vif; à cet égard, le *Ph. Fischeri* ressemble entièrement aux deux espèces non encore décrites dont il a été question plus haut, espèces qui présentent aussi une étroite affinité avec lui en ce qui touche la forme des bactéries elles-mêmes.

Cultures non lumineuses et non diffluentes. — De temps en temps, quoique en général rarement, les ensemencements faits avec d'anciennes cultures de *Ph. Indicum*, de *Ph. luminosum* et de *Ph. phosphorescens* donnent naissance à des colonies peu ou point lumineuses. Parfois, le pouvoir lumineux du semis tout entier est affaibli uniformément; dans d'autres cas, quelques individus seulement ont subi cette modification. Pratique-t-on, avec les colonies peu ou point lumineuses, de nouveaux ensemencements, la propriété nouvellement acquise se montre héréditaire; en répétant toutefois l'opération, on réussit assez souvent à voir se reproduire des colonies douées du pouvoir lumineux primitif. Dans quelques cas, savoir chez le *Ph. phosphorescens*, j'ai vu des lignes d'inoculation, provenant de colonies non lumineuses, redevenir au bout de quelque temps, d'elles mêmes, lumineuses sur toute leur longueur. Chez le *Ph. Indicum* et le *Ph. luminosum*, le phénomène d'affaiblissement, dont il vient d'être parlé, se présente beaucoup plus fréquemment que chez le *Ph. phosphorescens*; en faisant avec ces espèces des inoculations de tube à tube, on est donc constamment exposé à voir décliner le pouvoir lumineux des cultures; pour le maintenir au même niveau, il faut opérer de temps en temps une sélection dans un ensemencement de colonies. Que l'épuisement du sol de culture ou, plus exactement peut-être, l'action prolongée des produits de sécrétion des bactéries, sans apport suffisant de matière nutritive, détermine de l'une ou de l'autre manière le changement en question, voilà qui est certain; mais, quant au pourquoi et au comment du phénomène, toute hypothèse manque en ce moment. Le cas fait naturellement songer à la production de deux formes, bien caractérisées par leurs colonies, chez l'organisme de la putréfaction, le *Vibrio Proteus*[1]), à la

[1]) Gruber, *Bacteriol. Centralblatt*, T. V, p. 345, 1889.

séparation du *Micrococcus prodigiosus* en individus pigmentés et non pigmentés[1]), et peut-être à la perte de la virulence chez les contages. La chose est évidemment importante, comme ayant rapport au problème général de l'hérédité, et les bactéries lumineuses permettront peut-être, mieux que d'autres espèces, de scruter cette question.

Les lignes précédentes étaient déjà écrites lorsque M. le professeur Fischer, de Kiel, auquel j'avais envoyé il y a quelque temps mon *Ph. luminosum*, m'annonça que de mes cultures étaient nées deux formes très différentes de bactéries lumineuses. L'une d'elles est désignée par M. Fischer comme »forme en bacille du foin«, l'autre, plus semblable au »bacille du charbon«, comme »forme en tête de Méduse«; reproduites par inoculation, toutes les deux furent reconnues constantes. Comme je suis parfaitement sûr que les bactéries de mon envoi provenaient d'une seule colonie, et celle-ci d'un seul individu, il a dû se produire ici un phénomène analogue à celui du *Vibrio Proteus*. Très probablement, la nature de l'aliment y a joué un rôle, car chez moi il ne s'est pas opéré de changement pareil à celui dont il vient d'être question, et dans des laboratoires bactériologiques différents les mélanges nourriciers employés ne sont sans doute jamais complètement identiques.

En même temps que le *Ph. luminosum*, j'avais envoyé à M. Fischer des cultures faiblement lumineuses de *Ph. Indicum* et de *Ph. phosphorescens*: chez lui, toutefois, ces cultures ont récupéré leur plein pouvoir photogénique, sans qu'il lui ait même été possible d'observer l'affaiblissement. Au reste, j'ai constaté qu'il existe de grandes différences quant à la stabilité des formes peu lumineuses; je possède actuellement un état *presque* complètement obscur de *Ph. Indicum*, et cet état est très constant: transporté sur différents sols de culture, il est resté obscur, sans qu'une seule colonie ait montré quelque tendance de retour à l'état antérieur.

Outre la perte de pouvoir lumineux due à des influences héréditaires, il existe encore un effet du même genre, mais purement temporaire et pouvant être provoqué à volonté par certaines modifications de l'aliment. Cette forme d'affaiblissement lumineux étant toujours accompagnée d'un prompt arrêt du développement, de la perte plus ou moins complète du pouvoir liquéfiant et de très singuliers changements de forme des bâtonnets et des vibrions, la cause en doit certainement être cherchée dans la pénétration, à l'intérieur de l'organisme, de matières particulières. Comme telles, j'ai reconnu certains sucres, en premier lieu la glucose, puis, dans une mesure moindre, la lévulose et la maltose; l'asparagine aussi exerçait une action analogue. Les quantités de ces matières, nécessaires pour faire cesser l'émission de lumière et la liquéfaction, sont minimes: l'addition de 1% de glucose, ou de 1% d'asparagine, suffit amplement. La lumière des bactéries lumineuses liquéfiantes n'émanant nullement, comme on le dit quelquefois, d'une matière sécrétée, mais étant liée, de même que chez le *Phosphorescens*, à la substance vivante elle-même, tandis que le pouvoir liquéfiant dépend de la sécrétion d'un enzyme analogue à la trypsine[2]), il est évident que la pénétration de la glucose ou

[1]) Schottelius, *Untersuchungen über den Microc. prodigiosus*, dans »*Festschrift für* Kölliker«, Leipzig 1887.

[2]) La preuve que les bactéries douées d'une action peptonisante ne sécrètent pas, comme on le prétend ordinairement, une pepsine, mais une matière semblable à l'enzyme de l'albumine, sécrété par le pancréas, cette preuve, dis-je, résulte de la circonstance

de l'asparagine dans la substance du corps des bactéries doit occassionner une double perturbation: rien, en effet, n'autorise à supposer que l'enzyme, aussi longtemps qu'il est renfermé dans le corps des bactéries, fasse l'office de combustible. Le pouvoir photogénique est, selon toute probabilité, une suite accidentelle de la respiration d'oxygène, l'énergie développée dans ce processus, et qui chez les organismes ordinaires se dégage comme chaleur, étant ici partiellement transformée en lumière. L'hypothèse que M. Radzizewsky[1]) a cherché à faire prévaloir, à savoir que l'émission de lumière dépendrait de la formation préalable de quelque matière particulière, cette hypothèse, admise ensuite par M. Bütschli[2]), me paraît peu probable; il est certain, tout au moins, que les aldéhydes dont j'ai fait l'épreuve, telles que la lophine, l'amarine, l'hydrobenzamide, l'essence d'amandes amères, le triméthylenoxyde (CH^2O^3) et l'aldéhyde acétique[3]), donnent lieu, même en faible quantité, à l'extinction de la lumière. Quant à la conclusion que la phosphorescence dépend de l'oxygène libre, non de l'oxygène combiné, elle découle de la manière dont se comporte le *Ph. phosphorescens*. Chez cette espèce, en effet, le développement et la division peuvent s'opérer par fermentation, même dans un milieu complètement privé d'oxygène, où le blanc d'indigo ne bleuit à aucun degré; mais alors on n'observe pas la moindre trace de lumière. Si le peroxyde d'hydrogène est capable d'entretenir la phosphorescence, cela s'explique par la décomposition tumulteuse de cette matière sous l'influence des bactéries lumineuses.

---

que la transformation n'a lieu qu'en cas de réaction neutre ou faiblement alcaline, tandis qu'avec la pepsine, au contraire, elle exige la présence d'un acide libre; la preuve résulte aussi de la nature des produits formés, parmi lesquels, en outre des peptones, on trouve de la tyrosine et de la leucine, qui manquent dans les vrais processus peptiques.

[1]) *Ueber die Phosphorescenz der organischen und organisirten Körper*, dans Liebigs *Ann.*, 203, 1880, p. 305.

[2]) *Protozoen*, p. 1094.

[3]) Toutes ces substances m'ont été données par M. le professeur van 't Hoff.

Les bactéries lumineuses dans leurs rapports avec l'oxygène.

Archives Néerlandaises des Sciences Exactes et Naturelles, Haarlem, T. XXIII, 1889 p. 416—427. — Verscheen onder den titel: »Over de betrekking van de lichtbacterien tot de zuurstof« in Maandblad voor Natuurwetenschappen, Amsterdam, 16e Jaargang, 1889, blz. 11—18.

J'ai étudié trois espèces de *Photobacterium*, savoir les *Ph. phosphorescens*, *Indicum* et *luminosum*, au point de vue de leurs relations avec l'oxygène libre. Dans une pareille étude, trois fonctions différentes et, à ce qu'il paraît, indépendantes l'une de l'autre, doivent être considérées, tant en elles-mêmes que par rapport au développement. Ce sont: la combustion physiologique sous l'influence de l'oxygène libre, à laquelle est due la phosphorescence, la fonction réductrice et la fonction ferment; de ces trois fonctions, toutefois, la dernière ne s'observe que chez le *Ph. phosphorescens*, tandis que le *Ph. luminosum* et le *Ph. Indicum* possèdent bien des propriétés réductrices énergiques, mais ne peuvent faire fermenter les sucres. En conséquence, les deux espèces nommées en dernier lieu doivent être rapportées aux microbes exclusivement aérobies, le *Ph. phosphorescens* aux anaérobies facultatifs. L'anaérobiose de cette espèce est toutefois peu parfaite, c'est-à-dire la quantité d'oxygène lié, nécessaire pour l'anaérobiose, est relativement grande, beaucoup plus grande par exemple que pour celle des différentes espèces de levûres; cela ressort des très faibles dimensions qu'atteignent les colonies nées, dans un milieu privé d'oxygène, d'individus aérés.

Les phénomènes ferment et réducteur du *Ph. phosphorescens* étant mis en lumière par les mêmes expériences, il sera convenable de parler simultanément des l'un et de l'autre.

Outre l'oxygène fixe nécessaire pour l'anaérobiose, et que nous appellerons »l'oxygène excitateur«, il y a dans le protoplasma encore une seconde liaison entre l'oxygène et la substance vivante, celle de l'oxygène libre qui rend possible la fonction photogénique et qui se laisse indubitablement comparer à l'oxygène servant à la respiration ordinaire des cellules, tant lumineuses que non lumineuses.

Les expériences d'où découle l'existence de ces deux différentes formes de liaison seront décrites plus loin.

Dans plusieurs de mes expériences, je me suis servi de l'hydrosulfite de sodium comme moyen d'enlever tout leur oxygène aux milieux nourriciers ou aux liquides lumineux; quelques mots à propos de ce réactif ne seront donc pas déplacés.

L'hydrosulfite de sodium, découvert par M. Schützenberger[1], employé plus tard par M. Pasteur et par d'autres pour déterminer par titrage la proportion d'oxygène dans le moût de bière et dans d'autres liquides fermentés, se prépare comme il suit[2].

[1]) *Comptes rendus*, T. 75, p. 880, 1873.

[2]) D'après M. Pasteur, *Études sur la bière*, p. 343, 1876.

Dans une dissolution de bisulfite de sodium du commerce on fait passer de l'acide sulfureux jusqu'à saturation, puis 100 cm. du liquide, introduits avec 30 gr. de zinc en poudre dans un flacon que le mélange remplit entièrement, sont fortement secoués pendant 1/4 d'heure environ. Le contenu du petit flacon est alors jeté dans un grand flacon, déjà presque entièrement rempli par 2 litres de lait de chaux, fraîchement préparé en mêlant avec l'eau 100 gr. de chaux vive. Après avoir été secoué, le mélange s'éclaircit rapidement; le liquide limpide, au-dessus du dépôt, est l'hydrosulfite; on l'étend encore de 2 litres d'eau et on le conserve dans un flacon bouché. Lorsqu'on veut étudier l'action de l'hydrosulfite sur le pouvoir lumineux et le développement des bactéries lumineuses, il est bon d'y ajouter 3% de sel marin et de neutraliser par quelques gouttes d'acide lactique.

Le liquide ainsi préparé réduit l'indigo en grande quantité, ne se décompose pas à l'ébullition, est parfaitement incolore et transparent, n'est pas vénéneux pour les bactéries lumineuses ni pour beaucoup d'autres microbes, et se change par absorption d'oxygène en sulfite neutre ($SO^2\ Na^2$ devient $SO^3\ Na^2$), qui en dissolution étendue est également dépourvu d'action nocive. Dans des dissolutions acides on ne peut toutefois pas faire, avec ce réactif, des experiences relatives au développement, vu que l'acide sulfureux mis en liberté entrave les fonctions vitales.

Les bactéries photogènes ne dégageant de lumière que dans des liquides faiblement alcalins ou neutres, et une proportion très minime d'acide étant déjà suffisante pour éteindre toute action de ce genre, les expériences de phosphorescence doivent, elles aussi, être exécutées dans des milieux neutres. Comme indicateur, dans ces expériences, on se sert du carmin d'indigo, qui en cas de réaction neutre devient d'un jaune pur[1]), de sorte que l'instant où les dernières traces d'oxygène ont été enlevées se laisse fixer avec beaucoup de précision.

Après ces préliminaires, j'aborde mes expériences, en commençant par celles qui concernent le dégagement de lumière.

Action de l'hydrosulfite de sodium sur la fonction photogénique. — Si à de l'eau de mer rendue fortement phosphorescente par des bactéries lumineuses on ajoute, outre un peu de carmin d'indigo, un excès d'hydrosulfite de sodium, ce qui naturellement produit la réduction de tout l'indigo, le temps au bout duquel la phosphorescence cesse, puis reparait quand l'indigo bleuit à la suite de l'agitation avec de l'air ou de l'addition de quelques gouttes de peroxyde d'hydrogène, ce temps, dis-je, n'est pas le même pour les différentes espèces. Le *Ph. phosphorescens* perd le pouvoir lumineux plus tôt et le récupère plus tard que les *Ph. luminosum* et *Indicum*, de sorte que la tension de l'oxygène, nécessaire pour la phosphorescence, est pour ces dernières espèces moindre que pour le *Ph. phosphorescens*. Compare-t-on ensuite exactement, en procédant avec lenteur à l'addition de l'hydrosulfite, les moments de la perte de la lumière et de la décoloration de l'indigo, voici la différence qu'on observe entre les espèces dont il s'agit.

Pour toutes les trois, à la vérité, on voit, après la réduction totale de l'indigo, la phosphorescence persister encore quelque temps; mais une fois l'extinction

---

[1]) En cas du réaction acide ou alcaline, les passages, au moment où la réduction devient complète, sont beaucoup plus difficiles ou même impossibles à saisir. Le sulfure d'ammonium et l'hydrogène sulfuré exerçent une action décolorante sur l'indigo, c'est pourquoi il est bon d'ajouter aux cultures une trace d'un sel de fer.

totale produite, les phénomènes du retour de la lumière, par l'accès de l'oxygène, sont légèrement différents. Alors, en effet, les *Ph. Indicum* et *luminosum*, même avant la formation de la moindre trace de bleu d'indigo, ont déjà acquis un pouvoir lumineux notable, tandis que le *Ph. phosphorescens* ne récupère ce pouvoir que peu de temps avant l'oxydation de l'indigo, ou simultanément avec elle. Nous apprenons ainsi ce fait remarquable, que des traces d'oxygène libre, en cas de présence simultanée de blanc d'indigo et de quelques espèces de bactéries lumineuses, sont absorbées plus tôt par ces organismes que par l'indigo réduit, — et aussi plus tôt, comme il ressort de la description de l'expérience, que par l'hydrosulfite. Ces bactéries lumineuses sont donc, pour des traces d'oxygène libre, un réactif plus sensible que l'hydrosulfite et que le blanc d'indigo. Connaissant cette propriété, nous ne sommes plus surpris qu'un liquide rendu phosphorescent par des bactéries lumineuses bien nourries puisse, après l'addition d'hydrosulfite, continuer encore, pendant un temps relativement long, à émettre de la lumière; en effet, tant que l'oxygène libre retenu par les bactéries n'est pas consommé, il peut bien profiter à la fonction lumineuse, mais non être fixé par l'hydrosulfite. Il suit donc de là que l'oxygène libre, — et il n'est ici nullement question de l'oxygène excitateur nécessaire aux fonctions réductrice et ferment, — une fois admis dans les cellules, ne peut plus en sortir par diffusion. Certes, c'est un phénomène intéressant que de voir un liquide, rendu lumineux par le *Ph. phosphorescens* ou mieux encore par le *Ph. Indicum* ou le *Ph. luminosum*, et auquel on ajoute de l'indigo et de l'hydrosulfite en grand excès, continuer à briller pendant une demie heure et plus, malgré la présence du blanc d'indigo et aux dépens de l'oxygène libre contenu dans les cellules. J'ai remarqué que l'état de nutrition antérieur n'est pas sans influence sur ce phénomène, mais il n'est pas encore possible de communiquer à cet égard des résultats positifs.

En termes un peu différents, les observations qui viennent d'être décrites se laissent résumer ainsi: L'affinité du *Ph. luminosum* et du *Ph. Indicum* pour les traces d'oxygène dissoutes dans le liquide ambiant est notablement plus grande que celle du blanc d'indigo, tandis que celle du *Ph. phosphorescens* diffère moins de cette dernière. Il convient de remarquer ici, bien que plus loin nous devions revenir spécialement sur ce point, que le bleu d'indigo peut à la vérité être réduit par nos bactéries photogènes, mais que ce processus de réduction ne donne pas lieu à un dégagement de lumière.

Ces expériences tranchent, me semble-t-il, une question d'un certain intérêt théorique, dont voici l'énoncé:

Les bactéries lumineuses (et autres organismes analogues) enlèvent-elles complètement l'oxygène au milieu ambiant, ou bien l'absorption cesse-t-elle dès que ce gaz a atteint une certaine tension minima?

En ce qui concerne nos bactéries, je crois que la première hypothèse est la bonne: elles privent absolument d'oxygène le milieu ambiant, et elles le font indépendamment de tout processus de réduction.

Cela résulte, si je ne me trompe, de ce qui a été dit plus haut, lorsqu'on en rapproche un autre fait, que personne, à ma connaissance, ne révoque en doute. Ce fait, c'est que le bleu d'indigo, placé, à l'état dissous, dans le vide absolu, par conséquent sous une tension d'oxygène = o, n'éprouve pas la moindre décompo-

sition, de sorte qu'il n'y a aucune raison d'admettre l'existence d'une certaine tension d'oxygène minima, à laquelle le bleu d'indigo se changerait en blanc d'indigo. De là se déduit donc, inversement, que le blanc d'indigo peut enlever les dernières traces d'oxygène au milieu ambiant, en raison de l'incontestable attraction qui existe entre ces deux corps et qui n'est pas représentée par un équilibre mobile. Or, l'attraction exercée sur l'oxygène par nos bactéries lumineuses étant encore plus grande que celle du blanc d'indigo, elles aussi doivent pouvoir produire dans le milieu le vide absolu d'oxygène.

Plus loin, nous parlerons de la manière dont nos bactéries réduisent l'indigo; ici, il suffit de remarquer que, d'après ce qui précède, la réduction n'est pas due à ce que les bactéries abaissent la tension de l'oxygène dans le liquide au-dessous d'un certain minimum, où le bleu d'indigo cesserait de pouvoir exister; car le bleu reste inaltéré, comme il a été dit, même à une tension = o.

L'état particulier de liaison, dans lequel doit se trouver à l'intérieur des cellules l'oxygène qui entretient la phosphorescense, n'est évidemment pas comparable à celui d'une dissolution physique; mais il ne l'est pas non plus à celui de l'oxyhémoglobine, car ce dernier corps subit une dissociation dans le vide. Le protoplasme vivant doit donc pouvoir s'unir d'une manière toute spéciale à l'oxygène, et en cela, précisément, il faut voir l'une des propriétés les plus caractéristiques de la matière vivante.

Ce rapport, toutefois, n'est pas le seul que le protoplasme phosphorescent ait avec l'oxygène. Outre la forme de liaison dont il vient d'être parlé, il existe une seconde combinaison entre le corps bactérien et l'oxygène, savoir avec l'»oxygène excitateur«, combinaison de laquelle la fonction photogénique est indépendante, mais qui rend possible la mise en train de la fermentation et de la réduction.

L'existence de cet oxygène excitateur est dévoilée par les phénomènes qu'on observe lorsque les bactéries *se développent* en présence du bleu d'indigo. A ce sujet, je communiquerai d'abord quelques remarques relatives à la réduction par les *Ph. Indicum* et *luminosum*; ensuite je considérerai le *Ph. phosphorescens*, simultanément à ce même point de vue et à celui de la fermentation, parce que ces deux propriétés sont mises en évidence par les mêmes expériences.

Phénomènes de réduction lors du développement des Ph. luminosum et Indicum. — Le fait, que les bactéries lumineuses exercent une action fortement réductrice sur le milieu ambiant, se constate le plus facilement par la décoloration qu'éprouvent, à l'abri du contact de l'air, certaines matières colorantes ajoutées à l'aliment, Des différentes matières recommandées à cet effet, telles que le tournesol, le bleu coupier et le carmin d'indigo, la dernière est celle qui mérite de beaucoup la préférence, tant à cause de sa grande sensibilité pour l'oxygène et de sa résistance à l'action d'autres réactifs, qu'en raison de son innocuité pour les bactéries, même quand elle est employée en grande quantité.

Pour mettre en évidence, à l'aide de cette matière, le pouvoir réducteur des bactéries photogènes en question, le mieux est d'exécuter en sa présence l'expérience de Liborius. Cette expérience consiste à cultiver les bactéries dans des tubes d'essai profonds, où l'air ne pénètre, dans le milieu de culture solide, que jusqu'à une faible distance de la surface.

Voici comment l'on procède:

La gélatine nourricière, composée d'une décoction de poisson dans de l'eau contenant 3 °/o de sel marin et 1/2 °/o de peptone, est colorée en bleu par l'addition de quelques gouttes de carmin d'indigo; on laisse refroidir lentement, en secouant continuellement pour que la gélatine puisse se saturer d'air, puis on y mêle avant la coagulation une goutte d'une culture de la bactérie à étudier, et on verse le tout dans un long tube d'essai, où la gélatine se prend en une colonne lumineuse. Le dégagement de lumière ne dure toutefois qu'un ou deux jours, parce qu'au bout de quelque temps l'oxygène inclus dans les couches profondes de la gélatine est consommé, la diffusion ne pouvant pourvoir d'air frais que les bactéries voisines de la surface. Après 2 ou 3 jours, l'indigo peut devenir jaune clair dans le bas du tube, bien que le développement y soit si faible que la gélatine reste transparente, ce qui était d'ailleurs à prévoir d'après le caractère aérobie de ces bactéries. La réduction commence près de la surface, laquelle reste bleue, et de là se propage dans la profondeur. Cela tient à ce que les bactéries se développent plus vigoureusement près de la surface, d'où résulte bientôt l'insuffisance de l'apport d'oxygène, et à ce que le pouvoir réducteur s'exalte sous l'influence de l'oxygène excitateur. Tandis que la surface restée bleue continue à émettre de la lumière, cette émission cesse complètement là où commence la réduction.

Si pour ces expériences on fait usage de gélatine nourricière exempte de sucre et pauvre en amide, on reconnait que le pouvoir liquéfiant est indépendant de la présence ou de l'absence de l'oxygène. Par l'addition de 1/2 °/o de glucose la sécrétion de l'enzyme liquéfiant peut être empêchée, mais alors le pouvoir lumineux se perd aussi, manifestement à cause de la formation d'un acide.

Un mot a déjà été dit, plus haut, du mécanisme sur lequel repose la réduction du bleu d'indigo. Nous avons vu qu'il n'y a pas de raisons pour expliquer ce processus par l'abaissement, jusqu'à un certain minimum, de la tension de l'oxygène. Probablement, au contraire, il faut y voir une transformation opérée à l'intérieur du corps bactérien. D'une part, en effet, les cellules de la levûre ordinaire, qui dans tous leurs actes vitaux essentiels se rapprochent tant des bactéries lumineuses, et qui enlèvent très rapidement les dernières traces d'oxygène au milieu ambiant, n'ont pas la moindre action décolorante, et l'observation nous apprend qu'elles possèdent une grande impénétrabilité à toutes sortes de matières colorantes, même au bleu de méthylène et à la cyanine; d'autre part, on voit l'énergique pouvoir réducteur des bactéries s'accompagner de la facile pénétration des matières colorantes dans le corps bactérien vivant; entre ces deux propriétés on est donc naturellement tenté d'établir un rapport de cause à effet.

Phénomènes de fermentation et de réduction chez le Ph. phosphorescens. — J'ai déjà fait remarquer que les bactéries lumineuses ordinaires de poisson phosphorescent appartiennent aux organismes-ferments. Elles possèdent le pouvoir, en l'absence de l'oxygène libre, ou, plus exactement peut-être, dès que la tension de ce gaz tombe à une certaine valeur, de décomposer la glucose, la lévulose, la maltose et la galactose, avec dégagement d'acide carbonique et d'hydrogène, en volumes à peu près égaux; ce que devient le reste du carbone est encore incertain. L'expérience suivante permet de se convaincre de l'existence de la fermentation. On prépare une gélatine nourricière convenable pour les bactéries lumineuses et on y ajoute 1 °/o d'un des sucres précités; ensuite on l'ensemence, au moment où

la coagulation va commencer, d'un nombre modéré des bactéries en question, ce qui s'obtient le plus facilement en raclant avec une spatule de platine un peu de mucus bactérien lumineux d'une culture ordinaire en tube, et le portant dans la gélatine nourricière; après distribution uniforme, on verse le mélange dans un tube d'essai. A la vérité, il y a alors au début encore un peu d'oxygène dissous dans la gélatine, mais il est bientôt consommé par les bactéries, et comme l'oxygène ne se diffuse que lentement de haut en bas [1]), l'anaérobiose, et par suite la fermentation, ne tardent pas à se produire dans la profondeur du tube; la fermentation est reconnaissable aux développement de bulles gazeuses, qui ne peuvent s'échapper de la gélatine.

La fermentation déterminée par le *Ph. phosphorescens*, en cas d'exclusion de l'oxygène, précède l'entrée en jeu de la fonction réductrice; cela ressort du fait que, si la gélatine saccharifère est mêlée de bleu d'indigo, cette matière n'est transformée en blanc d'indigo que lorsque les bulles de gaz n'augmentent plus guère, ni en nombre, ni en volume. En exécutant cette expérience, on a l'occasion d'observer encore un autre fait assez intéressant, à savoir, que l'addition d'un peu de sucre protège pendant quelque temps l'indigo contre l'action réductrice: si l'on prend deux tubes, dont l'un contienne le *Ph. phosphorescens* en présence d'indigo seul, l'autre en présence d'indigo et de 1 % de glucose, on voit, toutes circonstances égales d'ailleurs, la décoloration apparaitre dans le second tube un couple de jours plus tard que dans le premier. On reçoit ainsi, au premier abord, l'impression que la fermentation de la glucose pourrait être considérée comme un phénomène de réduction de cette substance. Mais, en y réfléchissant, en reconnait que cette interprétation ne saurait être admise. En effet, avec d'autres organismes-ferments, tels que les espèces ordinaires de levûres, on n'observe aucune réduction, et les manifestations les plus énergiques de cette dernière fonction se présentent justement chez les espèces aérobies, par exemple chez les différentes formes du *Bacillus subtilis* et de ses analogues; rien n'autorise donc à penser qu'il existerait quelque rapport causal entre le pouvoir réducteur et le pouvoir ferment du *Ph. phosphorescens*.

Il est difficile de se faire une idée quelque peu précise de la quantité d'oxygène qui doit se trouver à l'état d'union lâche dans les cellules pour rendre possibles et maintenir en activité les phénomènes de la fermentation et de la réduction. Tout ce qu'on peut dire avec certitude à cet égard, c'est que cette quantité est moindre que celle de l'acide carbonique formé pendant la fermentation; en effet, si l'on calcule combien d'acide carbonique il pourrait approximativement se produire, en partant de la supposition pue le poids entier des bactéries semées consistât en oxygène libre et en y ajoutant l'oxygène dissous dans la gélatine, on obtient un chiffre qui est un grand nombre de fois plus petit pue celui de l'acide carbonique réellement dégagé. Au reste, le dégagement d'un volume d'hydro-

[1]) La vitesse de diffusion de l'oxygène dans la gélatine est faible, environ 1 cm. en 24 heures, et beaucoup plus petite que celle de l'acide chlorhydrique, de l'acide lactique, etc. Des nombreuses matières que j'ai essayées, c'est l'ammoniaque qui se diffuse le plus rapidement; les grandes différences observées sont évidemment réglées en premier lieu par le degré de solubilité des matières dans l'eau, et en second lieu par les constantes de diffusion.

gène égal à celui de l'acide carbonique nous apprend qu'il ne saurait être question ici d'un processus d'oxydation, mais qu'il faut attribuer à l'oxygène un rôle analogue à celui qu'il joue dans la fermentation alcoolique, c'est-à-dire, le rôle de stimulant. Tout ceci répond entièrement à ce qu'on observe dans l'anaérobiose vraie, par exemple chez le *Bacillus Amylobacter*, avec cette seule différence que, dans ce dernier cas, la quantité d'oxygène qui agit comme stimulant est encore beaucoup plus faible et ne peut être mise en évidence que par des expériences faites avec soin.

Ainsi qu'il a été dit plus haut, cet oxygène excitateur ne se trouve pas à l'état libre dans le milieu nourricier des bactéries, mais à l'état d'union lâche — quoique sous forme solide — danc la substance des bactéries elles-mêmes. On sait que, lorsque la fermentation eut pour la première fois été expliquée comme »la vie sans oxygène libre«, on crut que les organismes de la fermentation devaient posséder le pouvoir de soustraire de l'oxygène libre au sucre, et, bien que M. Pasteur ait été le premier à redresser cette erreur fondamentale et à exposer clairement, au moins pour la levûre de bière, comment les choses se passent en réalité, l'erreur en question est encore loin d'avoir disparu de la littérature physiologique. Cela n'a rien de surprenant d'ailleurs, car il semble incontestablement étrange d'entendre dire que »pour la vie sans oxygène libre, de l'oxygène libre est nécessaire«. Telle est pourtant l'expression exacte, non seulement pour le rapport de l'oxygène avec la fermentation, mais même pour la fonction réductrice des microbes: sans oxygène libre pas de réduction d'indigo bleu en indigo blanc, pas de formation de nitrites aux dépens des nitrates. Or, tous ces faits tiennent manifestement à un mode particulier d'association que l'oxygène contracte avec la matière vivante des organismes de la fermentation ou avec l'un de ses principes constituants.

En résumant tout ce qui vient d'être communiqué au sujet des bactéries lumineuses en général et du *Ph. phosphorescens* en particulier, nous arrivons donc à cette conclusion: L'oxygène excitateur fixé n'est pas en état d'entretenir la phosphorescence, mais il est capable d'entretenir tant la fermentation, et comme suite de celle-ci la multiplication jusqu'à un certain degré de l'organisme, que la fonction réductrice. Pour la phosphorescence, l'oxygène doit se trouver à un état plus libre; toutefois, cet oxygène n'est pas physiquement dissous dans la substance vivante des bactéries, mais il forme avec le protoplasme une combinaison pouvant se maintenir dans le vide.

Sur le kéfir.

Archives Néerlandaises des Sciences Exactes et Naturelles, Haarlem, T. XXIII, 1889, p. 428—444. — Verscheen onder den titel: »Kefir« in Handelingen van het Tweede Nederlandsch Natuur- en Geneeskundig Congres, gehouden te Leiden, 1889, blz. 106—116.

1. *Provenance et usage.*

Par kéfir ou hyppö[1]) on entend le ferment du lait des tribus montagnardes du Caucase[2]), et aussi la boisson résultant de son action sur le lait. Le vrai nom de cette boisson, toutefois, est »sakwaska«. Pour la clarté du discours, on peut désigner le ferment sous le nom de »grains de kéfir«.

Selon toute probabilité, le kéfir dérive du koumis[3]) et en est une forme améliorée. Comment cette dérivation s'est faite, c'est ce qu'on ne sait pas d'une manière certaine, mais la tradition suivante paraît digne de foi.

Les anciens peuples du Caucase apportèrent un premier perfectionnement à la préparation du koumis en n'y employant plus, comme le font encore aujourd'hui les nomades de l'Asie centrale, du lait de jument, mais du lait de vache ou de chèvre. Cette préparation se faisait d'abord dans des vaisseaux de bois de chêne, qui n'étaient jamais nettoyés: après la fin de la fermentation, établie spontanément, on ne les vidait qu'en partie, puis on ajoutait de nouveau du lait frais. Bien qu'il doive y avoir de grandes chances pour que, dans le liquide ainsi dilué, la fermentation primitive recommence et se continue de la même manière, il paraît pourtant s'être produit fréquemment des troubles, qui donnaient lieu à l'altératien du produit et firent rechercher un procédé meilleur et plus sûr. Celui-ci fut trouvé dans l'emploi de caillettes de veau ou de mouton, déposées sur le fond des récipients en chêne, et y restant dans un état de repos aussi parfait que possible. On vit alors se former çà et là, sur le bois des parois, des grains de kéfir, qui ensuite furent reconnus capables de provoquer eux-mêmes dans le lait, sans accompagnement de caillettes, la fermentation voulue. On ne comprend pas très bien pourquoi il existe, semble-t-il, un rapport si intime entre les caillettes et la production du kéfir; néanmoins, comme on sait que les ferments de l'acide lactique, qui constituent la partie prineipale des grains de kefir, se ren-

[1]) Pour plus de détails, je renvoie à la traduction allemande de l'opuscule russe de Podwyssotzki, *Kefyr, Kaukasisches Gärungsferment und Getränk aus Kuhmilch*. Petersburg, C. Rieker, 1884, où l'on trouvera aussi des indications sur la littérature russe relative à ce sujet.

[2]) Kern, *Bull. d. la Soc. imp. d. natur. de Moscou*, 1881, p. 141, parle des Ossètes et des communes situées pres des plus hauts sommets du Caucase, l'*Elbrouz*, le *Koschtan-Tau*, le *Dych-Tau* et le *Kosbek*.

[3]) C'est ainsi que Kern (*l. c.*, p. 143), parlant du kéfir, dit: »Par une fermentation plus prolongée, il se change en une boisson mousseuse, écumeuse, fortement acide, semblable au koumis des steppes.«

contrent très généralement à la surface des estomacs de veau et y trouvent donc selon toute apparence un milieu nutritif favorable, il n'est pas improbable que les choses se sont réellement passées de la manière ci-dessus décrite.

Les grains de kéfir jouissent d'une vitalité très persistante; oubliés pendant des mois dans le lait aigri, ils peuvent, si on les remet dans du lait frais, déterminer promptement une nouvelle fermentation. En admettant que, comme boisson, le kéfir vaille le koumis, la préparation du premier offre évidemment, par la sûreté que lui donne l'emploi du ferment, un grand avantage sur celle du second, de sorte que le mot »kéfir« qui signifie »meilleure qualité«, est pleinement justifié.

Pour la préparation ordinaire du kéfir, telle qu'elle se pratique au Caucase, une grande quantité de ces grains de ferment est introduite dans des outres en cuir remplies de lait; à l'aide d'une agitation fréquente, — obtenue par exemple en plaçant les outres à portée des passants, qui ont coutume de les faire rouler en les poussant du pied, — le contenu est bientôt transformé en kefir (sakwaska).

Pendant cette opération, les grumeaux de ferment eux-mêmes s'accroissent, quoique lentement, et au bout de quelque temps ils se séparent en fragments plus petits. La multiplication des grains exigeant le renouvellement répété du lait (à 20° C., toutes les 12 heures au moins), et par conséquent certains soins, le ferment avait, surtout autrefois, une valeur assez considérable.

Comme la fabrication du kéfir dans des outres est encore exposée parfois à échouer, parce qu'il est difficile d'y éviter complètement la présence d'organismes agents de corruption, beaucoup de Caucasiens préparent leur sakwaska dans des cruches de grès.

Les Caucasiens attachent au kéfir un très haut prix. Ils appellent les grains »le millet du prophète« et leur attribuent des propriétés curatives énergiques, notamment dans les maladies des poumons. Aux étrangers ils paraissent avoir toujours caché leur boisson, car autrement il serait à peine explicable que, même en Russie, les notions un peu précises à cet égard ne datent que de 1867. En Angleterre, toutefois, les grains de kéfir étaient déjà connus depuis la guerre de Crimée; en 1855, les soldats revenus de l'expédition les avaient répandus dans le pays, sous le nom de »gingerbeerplant«.

Lorsqu'on possède un nombre suffisant de grains de kéfir sains[1]), la boisson se laisse facilement préparer, dans une bouteille bouchée, de la manière suivante. La bouteille est remplie au quart de grains, auxquels on ajoute un volume double ou triple de lait. On bouche la bouteille, on la place dans une enceinte dont la température s'élève à environ 20° C. et on agite fréquemment. Au bout de 12 heures le lait est transformé en kefir »faible«, au bout de 24 en kefir »fort«. Une énergique fermentation alcoolique et une faible formation d'acide lactique sont les signes caractéristiques du processus. Quant on emploie une quantité moindre de grains de kéfir, il se passe beaucoup plus de temps avant que la boisson soit prête; la fermentation alcoolique est alors trop ralentie et il se forme

[1]) Ils sont mis dans le commerce par le »Dépôt pharmaceutique de la Société sud-occidentale à Kieuw«, duquel j'ai moi-même reçu mes matériaux; dans notre pays, on peut se les procurer chez M. Stoffel, à Deventer.

un excès d'acide lactique; ce dernier effet se produit surtout sous l'influence des ferments lactiques spontanés partout répandus, lesquels ressemblent beaucoup à celui de kéfir, sans toutefois lui être complètement identiques.

2. *Structure des grains. Saccharomyces Kefyr et Bacillus Caucasicus. Lactase, un nouvel enzyme.*

Les grains de kéfir (fig. *A*) consistent en une association de deux êtres organisés très différents, savoir, une bactérie lactique (fig. *C*) et une levûre[1]), dont l'ensemble affecte la forme d'une petite plaque. Cette plaque produit un grand nombre d'excroissances locales qui, en augmentant de volume, finissent par se souder entre elles près de leur origine et se présentent alors comme des tubercules sur le corps kéfirien primitif (fig. *A* à droite). A l'exemple de M. Kern, on peut donner au ferment lactique le nom de *Bacillus Caucasicus*.

Quant à la levûre (fig. *B*), ce n'est pas, comme on le dit habituellement, le *Saccharomyces cerevisiae*: c'est une espèce différente, pour laquelle le nom de *Saccharomyces Kefyr* est tout indiqué. Le ferment lactique forme, de beaucoup, la masse principale des grains; dans les échantillons que j'ai examinés, la levûre se trouvait presque exclusivement à la surface et spécialement au côté convexe (*gl* fig. *A*)[2]) de la masse laminaire courbe ou enroulée qui constitue les grains; en quelques points seulement j'ai vu des chapelets ou de petites couches de cellules de levûre disséminés à l'intérieur de la masse, entre les bâtonnets du ferment lactique. L'intérieur des plaques de kéfir consiste, comme l'apprend l'examen microscopique, en une masse cohérente et tenace de très petites zooglœes (*zm* fig. *A*) du ferment lactique, dans laquelle se distinguent nettement l'épaisse paroi mucilagineuse et les bâtonnets et filaments. Sur des coupes transversales, on voit d'ailleurs une couche corticale (*sc*) et une moelle (*ml*), séparées par une limite assez tranchée; dans la moelle, la direction des filaments fortement courbés du ferment lactique est indéterminée; dans l'écorce, au contraire, ces filaments sont parallèles entre eux et dirigés normalement à la surface (*sc* à gauche). Dans les cavités (*ih*) des tubercules dont il a été question plus haut, on voit souvent un grand nombre de colonies de ferment entièrement isolées (*zm*), mais qui, en se multipliant, finissent par remplir complètement les cavités.

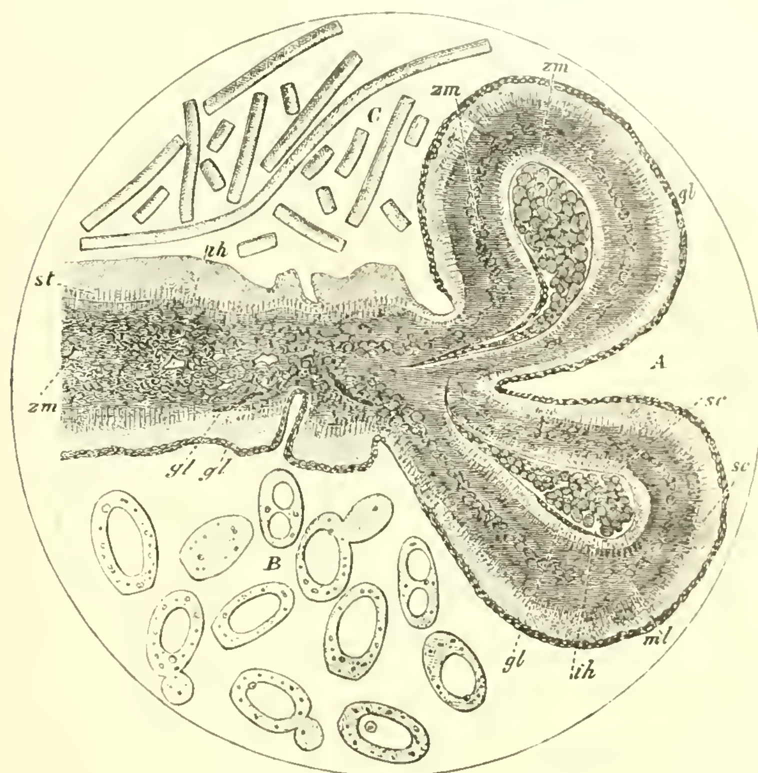
Le *Saccharomyces Kefyr* (fig. *B*) est très facile à obtenir en culture pure par l'ensemencement, avec des grains de kéfir réduits en poudre fine ou avec du lait kéfiré, sur une gélatine lactée faiblement acide. Les colonies ressemblent beaucoup à celles de la levûre de bière, mais possèdent un bord légèrement crénelé et restent plus petites. Sur la gélatine lactée on voit les colonies s'affaisser promptement dans un creux profond, par suite de la disparition locale du sucre de lait. Les cellules de la levûre sont de forme oblongue et beaucoup plus petites (3 à 6 μ) que les cellules de la levûre de bière (5 à 10 μ). Jamais je n'ai vu, même en les conservant pendant longtemps dans l'eau distillée ou sur de petits blocs de plâtre, s'y former des ascospores.

---

[1]) Cette levûre a été décrite pour la première fois par E. Kern, *Ueber ein neues Milchferment aus dem Kaukasus*, dans *Bullet. d. l. Soc. imp. d. natural. de Moscou*, T. 56, p. 141—177, 1881. Voir aussi *Bot. Zeit.*, 1882, N°. 16.

[2]) Dans la figure ce côté est tourné en bas.

En dehors de la taille et de la forme, le *S. Kefyr* se distingue encore du *S. cerevisiae* par la faculté de convertir le sucre de lait en alcool et acide carbonique, ce que ne peut faire la levure de bière (ni la levûre du vin, *S. ellipsoideus*). Ce pouvoir tient à la sécrétion d'un enzyme inversif, qui du sucre de lait forme de la glucose et de la galactose. Cet enzyme ne saurait être identique à l'invertine,



Grain de kéfir et constituants.

A (25). Coupe transversale d'un grain. On voit à droite deux excroissances.
gl Couche et chapelets de levûre.
zm Zooglœes de ferment lactique.
ih Cavités centrales.
ml Moelle.
sc Écorce.
st Structure en filaments parallèles.
B (900). *Saccharomyces Kefyr.*
C (1100). *Bacillus Caucasicus.*

car celle-ci, on le sait, est dépourvue du pouvoir d'invertir le sucre de lait; par contre, le sucre de canne est inverti tout aussi facilement par l'enzyme de la levûre de kéfir (et cela s'applique aussi à la seconde des deux espèces de levûres, découvertes par moi, qui invertissent la lactose, savoir au *S. Tyrocola*) que par l'invertine. Le nouvel enzyme peut être désigné sous le nom de «lactase». L'amidon n'est pas attaqué par la lactase.

Le fait que le *S. Kefyr* commence par invertir le sucre de lait et n'en détermine pas la fermentation directe, m'a été démontré au moyen du »sol lumineux« que j'ai mis en usage pour les présentes recherches et pour toutes celles du même genre. J'entends par là une gélatine nourricière appropriée aux bactéries lumineuses ordinaires, et dans laquelle le *Photobacterium phosphorescens* est distribué en individus assez nombreux pour que ceux-ci, développés en colonies, forment avec la gélatine une couche très uniformément lumineuse. Ce sol lumineux s'obtient, par exemple, de la manière suivante.

A un bouillon de poisson, contenant 3°/o de sel marin et 7°/o de gélatine, on mêle, au moment de la solidification, une quantité pas trop faible de mucilage bactérien provenant d'une culture jeune ordinaire, en tube d'essai, de la bactérie lumineuse ci-dessus nommée; on verse ce mélange dans une boite de verre bien stérilisée et on l'abandonne à lui-même, à la température d'appartement. Au bout d'une couple de jours, les innombrables germes isolés, partout répandus dans la gélatine, se sont développés en petites colonies vivement phosphorescentes; la couche entière brille alors d'une belle lumière vert-bleuâtre et est prête pour l'expérimentation ultérieure.

Lorsqu'il s'agit de mettre en évidence, avec une pareille gélatine, l'inversion du sucre de lait par le *Saccharomyces Kefyr*, voici comment on peut procéder.

Au moment de la préparation, avant de donner à la gélatine le mucilage bactérien, on la mélange avec 2 ou 3°/o de sucre de lait[1]), lequel sucre n'est aucunement altéré par le *Photobacterium phosphorescens* et n'exerce non plus la moindre influence sur cette bactérie lumineuse. Si l'on place toutefois, dès que l'émission de lumière commence à faiblir, un peu de culture de *S. Kefyr* sur la surface de la couche de la gélatine phosphorescente, on constate, après un ou deux jours, un très notable changement dans le sol lumineux, au voisinage des cellules de levûre. Ce changement consiste d'abord en un renforcement local du pouvoir lumineux, puis en un accroissement plus vigoureux de colonies. La forte lumière est due à l'action du sucre de lait qui a subi l'inversion, lequel, en opposition avec le sucre de lait non inverti, est assimilé par le *P. phosphorescens*, avec accroissement de pouvoir lumineux; le processus respiratoire ainsi activé est suivi plus tard d'une augmentation dans le développement des colonies[2]).

Outre le *S. Kefyr*, j'ai encore appris à connaître, ainsi qu'il a été dit plus haut, une seconde espèce de levûre invertissant le sucre de lait et lui faisant subir la fermentation alcoolique. J'ai trouvé cette levûre, composée de petites cellules arrondies de 3 à 4 μ de diamètre, très généralement répandue dans le fromage d'Edam, d'où le nom de *Saccharomyces Tyrocola* que je lui ai donné. Dans les publications les plus récentes il est d'ailleurs encore fait mention de deux

---

[1]) Comme la glucose, dès que le sol lumineux en contient 3/4°/o ou plus, empêche, à cause de l'acide que les bactéries lumineuses produisent à ses dépens, le dégagement de lumière, possible seulement dans un sol neutre ou faiblement alcalin, les expériences d'inversion doivent toujours être exécutées avec une faible proportion de sucre. Même alors il peut encore se former, tout autour des cellules de levûre déposées sur la gélatine un champ obscur, lequel toutefois est lui-même entouré d'un anneau lumineux.

[2]) Dans certaines circonstances l'accroissement des bactéries peut faire défaut; c'est alors que l'on voit la respiration dans toute sa simplicité.

formes de levûres, peut-être identiques au S. *Kefyr* (la seconde) et au S. *Tyrocola* (la première), qui possèdent le même pouvoir. La première de ces levûres a été trouvée par M. Duclaux[1], dans le lait, la seconde, S. *lactis*, par M. Adametz[2], également dans ce liquide.

Lorsque le S. *Kefyr* est cultivé pendant longtemps sur de la gélatine lactée neutre ou faiblement alcaline, on voit finalement la gélatine se liquéfier, de sorte que la levûre sécrète évidemment, au moins en petite quantité, un enzyme tryptique. On ne doit pas en conclure, toutefois, que dans le lait kéfir il se produise une action protéolytique, car la réaction de ce liquide est fortement acide, et même dans un milieu faiblement acide le S. *Kefyr* ne transforme pas la caséine. Pour cela, en effet, il faudrait la présence d'un enzyme peptique; or, un pareil enzyme n'est pas engendré par notre levûre, comme on doit l'inférer de l'expérience suivante, qui donne le même résultat avec le ferment lactique.

Dans une gélose au sérum de lait, appropriée au développement du ferment lactique et de la levûre de kéfir, on introduit une petite quantité d'une dissolution de caséine dans le carbonate de soude. Avant la solidification, on ajoute avec précaution de l'acide lactique libre, jusqu'à ce que la réaction soit devenue légèrement acide: une partie de la caséine est alors précipitée et on obtient, après la coagulation, un sol opaque, blanc d'albâtre, parfaitement homogène. En déposant sur ce sol quelques gouttes d'une dissolution de pancréatine et de pepsine, puis l'exposant à une température de 37° C, on voit qu'au bout de 24 heures tout le champ de diffusion de la pepsine est devenu parfaitement limpide, par suite de la peptonisation de la caséine qui s'y trouvait; l'action de la trypsine a été contrariée par l'acide mais non complètement empêchée. Or si, simultanément, on a porté sur la gélose un peu de levûre de kéfir et de ferment lactique de kéfir, aucun signe d'une action particulière ne s'observera au-dessous de ceux-ci, de sorte qu'il ne peut pas s'en être diffusé un enzyme peptique. Une autre preuve de l'absence de la pepsine dans le kéfir, c'est que des fragments anguleux de blanc d'œuf durci par la chaleur possèdent encore, après 24 heures de séjour dans le lait kéfiré, des bords aussi aigus que lorsqu'ils y furent plongés.

Le résultat final de ces expériences est donc que ni la levûre de kéfir ni le ferment lactique ne sécrètent de la pepsine et que le trypsine de la levûre de kéfir doit être inactive dans le lait au kéfir.

3. *Culture sur gélatine du Bacillus Caucasicus.*

S'il est facile de cultiver à l'état de pureté la levûre du kéfir, la chose est au contraire très malaisée en ce qui concerne le ferment lactique du kéfir, et il faut posséder un peu d'expérience bactériologique pour distinguer sûrement ce ferment de certaines impuretés. Je ferai remarquer que parmi celles-ci se rencontrent naturellement les espèces de bactéries qui peuvent vivre dans des liquides acides, telles que les différentes formes des ferments acétiques et les

---

[1]) *Ann. d. l'Inst. Pasteur*, T. I, p. 573, 1887.

[2]) *Centralblatt f. Bactériologie*, T. 5, p. 6, 1889.

nombreux ferments lactiques baculiformes. Il n'est pas possible de donner en peu de mots un aperçu de ces espèces: leur étude présente toutes sortes de difficultés et c'est à peine si elle a été commencée. D'autres impuretés ne causent aucun embarras quant à la distinction du *Bacillus Caucasicus:* de ce nombre sont les bacilles à acide carbonique et hydrogène. l'*Oidium lactis*, les levûres étrangères, le *Mucor racemosus*, les ferments lactiques du lait en forme de diplocoques.

Pour notre ferment aussi, la gélatine au sérum de lait, neutre ou faiblement acidifiée par l'acide lactique, constitue un bon sol de culture. Si l'on verse sur ce sol de l'eau dans laquelle a été broyé un petit fragment d'un grain de kéfir, on voit, après 2 ou 3 semaines ou même encore plus tard, apparaître çà et là, entre les colonies de levûre, les colonies très petites et extrêmement lentes à se développer du ferment lactique. Elles sont composées de minces bâtonnets (fig. C), différents de longueur et parfois aussi d'épaisseur. La grande lenteur du développement de ces colonies ajoute beaucoup à la difficulté de les isoler. Jusqu'à un certain point, toutefois, on peut parer à cet inconvénient en opérant à une température supérieure, ce qui rend nécessaire la culture sur gélose. On reconnait alors que la température la plus favorable à l'accroissement est très élevée, de 45° C. environ, point où la levûre de kéfir ne se développe plus du tout. Le *Baccillus Caucasicus* ne fait pas fondre la gélatine, ne forme ni lactase ni invertine, mais transforme directement en acide lactique le sucre de lait, le sucre de canne, la maltose et la glucose. Pour ce processus aussi, la température optima est très haute, de 40 à 45° C. environ. Sur l'amidon ou la caséine je n'ai pas remarqué que le *B. Caucasicus* exerçât quelque action particulière, non explicable par l'acide lactique produit. En toutes circonstances le ferment conserve la forme de bâtonnets ou de filaments, qui souvent restent unis en chapelets pouvant devenir fort longs. Jamais on n'observe le moindre indice de formation de spores, ni de phénomènes de mouvement.

La fermentation et la production d'acide lactique se font également bien, qu'il y ait présence ou absence complète d'oxygène libre. Sous la plupart des autres rapports aussi, notre ferment se comporte comme les ferments lactiques spontanés, baculiformes, de l'industrie de la fermentation; provisoirement, toutefois, on ne saurait affirmer qu'il leur soit identique.

Les essais auxquels je me suis livré pour faire naitre d'un mélange de levûre de kéfir et de ferment lactique, au moyen de la culture sur gélatine lactée, des grains de kéfir, ont échoué jusqu'ici: peut-être la durée de ces expériences, une demi-année environ, était-elle trop courte. J'y ai toutefois observé une forte agglutination entre les cellules de levûre et les bactéries, de sorte qu'elles ne pouvaient être séparées les unes des autres, même par une agitation prolongée dans l'eau. Il n'est guère douteux qu'on ne parvienne tôt ou tard à opérer, de cette manière, la synthèse des grains.

4. *Signification de la symbiose.*

Si l'on se demande quelle signification biologique peut être attribuée, avec un degré suffisant de probabilité, à l'association particulière que nous avons appris à connaître dans le grain de kéfir, la réponse semble pouvoir être donnée, comme

dans beaucoup d'autres cas, par la considération de l'utilité que l'homme en retire. Celle-ci, nous l'avons déjà vu plus haut, tient sans doute essentiellement aux propriétés antiseptiques que le lait a acquises après avoir été changé en kefir. Il est vrai que le sucre de lait est alors converti totalement ou en majeure partie, en alcool, acide carbonique et acide lactique; mais ce dernier acide est de grande utilité pour la digestion, et l'alcool et l'acide carbonique, dans les faibles proportions où ils se trouvent (et qui répondent tout au plus à 2 % de sucre de lait), ont également une action bienfaisante. Ce qui toutefois paraît être ici d'une importance spéciale pour l'existence et le développement de nos deux organismes eux-mêmes, c'est l'exclusion de la putréfaction et la diminution de la formation d'acide acétique dans leur aliment, si sujet à s'altérer. Si l'on réfléchit que l'acide acétique est très nuisible au développement de la levure et doit même être considéré à ce point de vue comme un vrai poison, tandis que l'acide lactique en petite quantité favorise la croissance des cellules de levûre et même à l'état de forte concentration (demi-normal par exemple) ne les tue pas, et que précisément ce même acide lactique chasse les ferments acétiques, — on comprendra pourquoi les cellules de levûre doivent trouver avantage à vivre associées au ferment lactique, qui se développe avec une lenteur extrême et n'a donc presque par besoin d'aliment: elles y gagnent, en effet, de se trouver dans un milieu exempt d'acide acétique et, en outre, exempt de bactéries de la putréfaction.

D'après les considérations qui précèdent, il n'y a pas lieu d'être surpris que les grains de kefir ne soient pas la seule substance où l'on rencontre, réunis, une levûre et un ferment lactique. Citons-en, à titre de preuve, quelques exemples.

Le fromage d'Edam est tellement riche en ferments lactiques baculiformes que, du moindre fragment, on peut en isoler des centaines. En exécutant ces cultures, je m'assurai bientôt qu'en tous les points de ce fromage se trouvent aussi des cellules de levûre, de l'espèce nouvelle[1]) dont il a été question plus haut, qui invertit le sucre de lait et met l'alcool en fermentation, et à laquelle j'ai donné le nom de *Saccharomyces Tyrocola*.

Les fourrages verts aigris, le maïs ensilé, par exemple, présentent le même phénomène: partout, dans la masse aigrie, du ferment lactique, mais partout aussi du *Saccharomyces Pastorianus*.

La pâte à pain, qui a une si grande tendance à s'aigrir, comme le prouve le levain, connu dès l'antiquité, contient non seulement d'innombrables bâtonnets de ferment lactique, mais, conjointement avec eux, les *Sacch. Pastorianus*, *S. minor* et autres formes de levûre. D'importantes industries, celle de la distillerie entre autres, sont en partie fondées sur ce fait.

Non moins remarquable, à ce point de vue, est le contenu du canal intestinal chez les enfants à la mamelle. Leurs déjections, couleur jaune d'œuf, ne sont tout entières, comme on l'a déjà décrit maintes fois, qu'une masse de bactéries, pratiquement une culture pure de ferment lactique, qui ne disparaît qu'à la suite du sevrage et est alors remplacée par la bile et le suc pancréatique. En examinant cette masse, j'y ai toujours trouvé en grande quantité une levûre sphérique, qui à la vérité ne fabrique que peu d'alcool et n'invertit pas le sucre de lait, mais

[1]) Cfz. *Centralblatt für Bacteriologie*, Bd. 6, pag. 44, 1889.

qui, bien que probablement sans utilité pour la digestion, démontre l'ardeur avec laquelle les levûres se multiplient dans les cultures du ferment lactique.

Tous ces exemples et toutes ces considérations expliquent facilement pourquoi la levûre de kéfir se trouve dans les zooglœes du ferment lactique du kéfir. Y a-t-il toutefois lieu de penser que la levûre, de son côté, apporte au ferment des conditions vitales plus favorables? A cette question aussi, la réponse doit indubitablement être affirmative, bien que la raison de l'action favorable soit moins évidente. Mon attention a pour la première fois été attirée sur cette action par le fait que, dans les cultures de mélanges de levûres et de ferments lactiques sur couches de gélose à 37° C, les colonies de ferment lactique accidentellement formées près de colonies de levûre croissent beaucoup plus vite et prennent de plus grandes dimensions que celles qui en sont éloignées. L'expérience m'a appris que la lactase, la glycérine, l'acide succinique, l'alcool, l'acide carbonique et la diminution de concentration du sucre de lait sont sans influence sur le phénomène. Je crois, en conséquence, qu'il faut songer à la sécrétion de peptones, ou peut-être de phosphate de potasse, par les cellules de levûre.

5. *Différentes préparations de kéfir.*

La possibilité de cultiver séparément les deux éléments du grain de kéfir fournit le moyen d'obtenir des préparations de lait formées, soit sous la seule influence de la levûre de kéfir, soit par l'action isolée du ferment lactique du kéfir. Bien entendu, il faut alors faire usage de lait stérilisé ou bouilli. En exécutant ces expériences, on voit, comme il était à prévoir, que la levûre de kéfir, après avoir produit passagèrement une légère coagulation de la caséine, probablement à cause de la formation d'acide succinique, détermine dans le lait une fermentation alcoolique. Le sucre de lait se transforme rapidement et complètement, et on obtient un liquide non acide, riche en alcool et fortement mousseux.

Le ferment lactique ne forme dans le lait que très peu d'acide carbonique; quand l'air est suffisamment renouvelé, rien ne dénote même cette formation, d'où il faut conclure que le sucre de lait peut être converti entièrement en acide lactique. J'ignore de quelle façon s'opère alors l'hydratation, nécessaire d'après la formule chimique. Ce n'est pas, ainsi que la remarque en a déjà été faite plus haut, au moyen d'un enzyme sécrété par le ferment lactique. L'expérience suivante le prouve.

Si l'on dépose une certaine quantité de ferment lactique sur une couche de gélatine ou de gélose, l'enzyme, à supposer qu'il y en eût, sortirait du ferment et se répandrait par diffusion dans la gélatine ambiante, tout comme cela a réellement lieu pour l'invertine, quand on opère avec la levûre; on obtiendrait donc ainsi l'enzyme entièrement isolé de l'organisme qui l'aurait produit. Or, si de la gélatine ainsi traitée on enlève un petit fragment, et qu'on le place sur un sol lumineux contenant, comme dans l'expérience décrite à propos de la levûre de kéfir, du sucre de lait, on n'observe aucun phénomène lumineux spécial, de nature à indiquer la présence d'un enzyme inversif. Examiné de la même manière, le lait aigri par le *Bacillus Caucasicus* se montre également dépourvu de tout enzyme inversif, tandis que, dans le lait kéfiré ordinaire, la lactase est facile à déceler par ce procédé.

Que, dans ce qui précède, soient énumérées toutes les actions auxquelles la levûre et le ferment lactique donnent lieu dans le lait, je ne le regarde pas comme démontré. C'est ainsi, par exemple, que la caséine parait se cailler, sous l'influence des grains de kéfir, un peu autrement que lorsqu'on se borne à y ajouter de l'acide lactique. Aussi m'avait-il semblé probable, à l'origine, que le grain de kéfir pouvait contenir un ferment de présure particulier, grâce auquel serait conservé, en dépit de l'acide lactique, l'état de fluidité si frappant du lait kéfiré. Différentes expériences, entreprises à l'effet de démontrer dans le kéfir la présence de quelque enzyme de présure, ont complètement échoué.

Mais le maniement des agents de coagulation exige des précautions extrêmes, dont l'oubli peut avoir pour résultat que la présence de ces agents nous échappe, et, dans le cas donné, ces précautions me sont peut-être restées inconnues. Sous ce rapport, l'étude du kéfir n'est pas achevée[1]).

Que le faible pouvoir tryptique de la levûre de kéfir, signalé plus haut, ait quelque importance, soit pour la nature du processus de coagulation, soit pour la dissolution d'une partie de la caséine, c'est ce qu'on ne saurait admettre. En effet, si à du lait qui a fermenté sous l'action de la levûre de kéfir seule, on ajoute de l'acide lactique libre, rien de spécial ne s'observe dans la marche de la coagulation.

Si l'on se demande à quoi peut bien être due l'action particulièrement favorable que le kéfir exercerait sur la santé et la digestion, il semble résulter, de tout ce qui précède, qu'il n'y a à tenir compte que de l'alcool, de l'acide lactique et de l'acide carbonique, par lesquels le lait kéfiré se distingue du lait ordinaire. En parcourant ce qui a été écrit à ce propos, je n'ai pu toutefois me convaincre que les données concernant l'influence salutaire du kéfir reposassent sur autre chose que sur la tradition, et des expériences décisives sont si difficiles à instituer en pareille matière, que le mieux est assurément de prendre pour critérium le goût de l'homme. A supposer qu'une personne à l'estomac faible trouve le kéfir une boisson agréable et lui convenant mieux que le lait, la question serait de savoir si elle ne donnerait pas la préférence au lait ordinaire additionné d'un peu d'acide carbonique, d'acide lactique et d'alcool. En prenant du lait bouilli, on disposerait ainsi d'une boisson stérilisée de composition connue. Il serait facile d'y ajouter aussi du phosphate de fer et de la pepsine, comme on le fait déjà pour le kéfir dans certains établissements.

Dans le cas, toutefois, où l'on viendrait à reconnaitre que les organismes du kéfir produisent sur l'estomac quelque action bienfaisante de nature encore obscure, ou déterminent dans le lait des changements encore autres que ceux dont nous avons parlé et capables d'augmenter la valeur nutritive du liquide, il y aurait intérêt à préparer, dans les fabriques de kéfir, les boissons modifiées dont il a été question ci-dessus. Le mieux serait d'opérer les cultures séparées du ferment lactique et de la levûre de kéfir dans du lait stérilisé à 70 ou 80° C., suivant la méthode de Tyndall. La première disjonction du ferment lactique et de la levûre devrait se faire par des cultures sur gélatine, mais plus tard on

---

[1]) Depuis que ceci a été écrit, j'ai poursuivi l'examen du kéfir, mais sans rien découvrir jusqu'ici au sujet de l'enzyme de présure.

pourrait toujours se servir des liquides eux-mêmes pour provoquer dans du nouveau lait soit la fermentation soit l'acidification. En mélangeant les deux produits en certaines proportions, on obtiendrait les différentes qualités de la boisson kéfirée à mettre en vente. On se trouverait évidemment à l'abri de tous les organismes étrangers et en état de fournir une boisson dont la richesse en alcool et en acide lactique serait connue et réglable à volonté.

Par rapport à la préparation elle-même, il y aurait cet avantage que la fermentation alcoolique du lait par la levûre de kéfir pourrait être effectuée à la température la plus favorable, de 28° C. environ, tandis que pour l'acidification, on choisirait la température de 40° C.; en opérant avec les grains de kéfir, au contraire, on est naturellement obligé de laisser agir la levûre et le ferment lactique à une seule et même température.

Die Lactase, ein neues Enzym.

Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, Jena, 6. Band, 1889, S. 44—48.

Die Lactase ist das Enzym, welches durch diejenigen Hefearten, welche Milchzucker vergähren, erzeugt wird.

Aus eigener Erfahrung sind mir zwei solche Hefen bekannt, welche ich Saccharomyces Kefyr und S. Tyrocola genannt habe. Zwar finden sich in der Literatur noch zwei Angaben über Milchzuckerhefen, nämlich diejenigen von Duclaux[1]) über eine kleinere und von Adametz[2]) über eine größere Art, und es ist wahrscheinlich, dass auch dadurch Lactase erzeugt wird, allein die genannten Autoren sprechen nur von der Vergährung und nicht von der Inversion des Milchzuckers. Möglicherweise wird die weitere Untersuchung ergeben, dass mein S. Tyrocola identisch ist mit Duclaux's Hefe, während S. Kefyr ziemlich genau der Beschreibung von Adametz's S. lactis entspricht. Ergibt sich S. lactis als identisch mit S. Kefyr, so muss dieser von mir gebrauchte Name aufgegeben werden.

Die Kefyrhefe. Bekanntlich[3]) bestehen die Kefyrkörner der Hauptsache nach aus einem stäbchenförmigen Milchsäureferment, welches nach dem Vorgange von Klein Bacillus caucasicus[4]) genannt werden kann, und aus einer Hefeart. Letztere wird von Klein und anderen Autoren nach ihm Saccharomyces cerevisiae genannt. Diese Auffassung beruht jedoch auf Irrthum, denn die Bierhefe vergährt Milchzucker nicht, die Kefyrhefe wohl — die Bierhefe vergährt Maltose wohl, die Kefyrhefe nicht —, das Wachsthum der Kefyrhefe wird durch Bernsteinsäure und Aethylalkohol gefördert, dasjenige der Bierhefe nicht, — und die Form, die Grösse und der Zellinhalt beider Arten sind gänzlich verschieden, bei grosser Konstanz ihrer Artmerkmale. Der Unterschied zwischen den beiden Arten ist viel grösser, wie z. B. derjenige zwischen S. ellipsoideus und S. cerevisiae. S. Kefyr nähert sich durch Grösse und Gestalt der Sammelart S. Pasteurianus, ja, gewisse unter diesem Namen beschriebene Hefen dürften mit S. Kefyr identisch sein.

Die Kefyrhefe bildet auf Nährgelatine — als solche verwende ich koncentrirte Malzextrakte mit 7% Gelatine oder Milchserumgelatine — wenig charakte-

---

[1]) Ann. d. l'Inst. Pasteur, T. I, 1887, pag. 573, und T. III, 1889, pag. 201.

[2]) Centralblatt f. Bakteriologie u. Parasitenk., Bd. V, 1889, pag. 116.

[3]) E. Klein, Ueber ein neues Milchferment aus dem Kaukasus. (Bullet. de la Soc. imp. d. nat. d. Moscou. Ann. 1881, pag. 141, m. 2 Tfl.) — W. Podwyssozki, Kefyr, Kaukasisches Gährungsferment und Getränk aus Kuhmilch. St. Petersburg 1884.

[4]) Dieser Bacillus invertirt den Milchzucker nicht, sondern bildet daraus direkt Milchsäure.

ristische Kolonieen [1]). Dieselben sind am Rande etwas buchtig, ohne die eigenthümliche Mycelbildung, woran die echten Pasteurianusformen so leicht kenntlich sind.

Man erhält die Kolonieen am leichtesten durch das Ausgiessen von mit Wasser verdünnter Kefyrmilch (Flaschenkefyr oder Sakwaska) auf die Oberfläche des oben genannten Nährbodens. Einzelne Fremdlinge, wie Oidium lactis, Saccharomyces Mycoderma, Essigbakterien und gewöhnliches Milchsäureferment, Diplococcus lactis, werden dabei sofort kenntlich.

Die Form der Zellen ist sehr verschieden, im Allgemeinen entschieden länglich. Die Grösse ist ebenfalls äusserst inkonstant, im Mittel messen die Zellen 5 bis 6 μ, das ist nahezu die Hälfte der Bierhefezellen. Das Protoplasma bleibt ziemlich lange homogen und hyalin. Der Zellkern ist deutlich, gewöhnlich in Einzahl und in den verschiedenen Zellen von gleicher Grösse. Ascosporenbildung konnte ich bisher nicht beobachten. Dagegen sah ich in alten Agarkulturen, worauf



Fig. 1.

einzelne Kolonieen nach mehreren Monaten 2—3 cm Mittellinie erreicht und stark gebuchtet worden waren, wahre Riesenzellen von 20 μ und mehr, mit sonderbaren Einschlüssen. Viele Zellen in solchen Kolonieen zeigen nach langem Aufbewahren eine dunkelschwarze Farbe der Zellwand und dürften dadurch ihre Verwandtschaft zu den Dermatien kundgeben [2]).

Auf die Haupteigenschaft unserer Hefe, Lactase zu erzeugen, komme ich unten zurück.

Die Käsehefe, Saccharomyces Tyrocola, ist ein regelmässiger Bewohner des berühmten „Edamer Käses". Ob die Eigenschaften dieses ausgezeichneten Produktes durch die Hefe beeinflusst werden, weiss ich nicht, ich halte das aber für sehr wahrscheinlich, da der Säuregehalt dieses Käses sehr essentiell für

[1]) Viele Hefearten erzeugen sehr charakteristische Kolonieen. Man muss dieselben dazu aus Einzelzellen auf dicken, nährstoffreichen Gelatineschichten wachsen lassen. Selbst in Impfstrichen sind manche Formen sofort kenntlich. Meine vielfachen Erfahrungen in dieser Beziehung werde ich später mittheilen.

[2]) Die schwarze Farbe der Zellwand kommt auch bei anderen Hefen vor, am regelmässigsten lässt dieselbe sich beobachten bei einer Essigätherhefe, welche ich Mycoderma acetaethylica genannt habe. Erschöpfung der Nährlösung ist bei dieser Art Ursache der Färbung.

den Geschmack ist [1]), und die Saure aus dem Milchzucker entsteht, welcher durch unsere Hefe vergohren werden kann. Ich habe eine Dreizahl Käse untersucht und in jedem Impfstiche mit einer Nadelspitze, woran ein wenig aus dem Käseinnern haftete, auf Milchserum sowie auf Malzgelatine eine nicht geringe Zahl Einzelkolonieen zwischen den noch viel zahlreicheren Käsebakterienkolonieen hervorsprossen sehen.

Die Kolonieen sowie die Hefezellen an sich ähneln dem Saccharomyces minor. Die Farbe der Kolonieen ist schneeweiss, während S. Kefyr (sowie S. cerevisiae und S. ellipsoideus) gelblich gefärbt sind. Das Wachsthum ist üppiger wie bei S. Kefyr. Rand und Oberfläche der Kolonie sind wie bei letzterer Art. Die Zellen sind rundlich, messen 3 bis 4 μ und gehören deshalb zu den kleineren Hefen. Die Kerne sind sehr deutlich, unregelmässiger wie bei S. Kefyr. Ascosporenbildung sah ich bei einigen gelegentlichen Versuchen nicht. Die Gährkraft ist grösser wie bei S. Kefyr, so dass bei nahezu 28° C in gleicher Zeit mehr Alkohol und Kohlensäure durch S. Tyrocola wie durch S. Kefyr



Fig. 2.

entstehen. Auch hier findet sich die Lactase als invertirendes Enzym, worüber ich nun einige Erfahrungen mitzutheilen wünsche.

Der Leuchtboden als Mittel zur Entdeckung enzymatischer Körper [2]). Mischt man Fleischwasserpeptongelatine oder Fischpeptongelatine, nachdem diese Nährmassen mit 3% Kochsalz versetzt sind, mit einer nicht zu geringen Quantität leuchtenden Schleimes einer Gelatinekultur der gewöhnlichen, nicht verflüssigenden Leuchtbakterien, Photobacterium phosphorescens [3]), so entsteht nach dem Erstarren eine gleichmässig schön grün leuchtende Schicht, deren Leuchtkraft während zwei bis drei Tagen fortwährend wächst, in Folge der Kolonieenbildung aus den Einzelkeimen. Nach dieser Zeit eignet sich der Leuchtboden für vielfache physiologische Versuche. Hier will ich angeben, wie ich damit die Lactase entdeckt habe.

Die Nährgelatine der Leuchtbakterien ward dazu mit 3% Milchzucker ver-

---

[1]) Die Praktiker sagen, der saure Geschmack sei nicht gewünscht. Genauere Untersuchungen scheinen zu fehlen, obschon die Frage für die Praxis nicht unwichtig und leicht zu beantworten ist.

[2]) Vergl. meine Mittheilung in Botan. Zeitung, 1888, pg. 763

[3]) Näheres über die Leuchtbakterien findet man in »Maandblad v. Natuurwetenschappen, 1889, Juni«.

setzt, wovon die vollständige Wirkungslosigkeit auf Ph. phosphorescens durch Vorversuche festgestellt war. Dagegen hatte sich ergeben, dass Glucose und Galactose, auf den Leuchtboden gebracht, die Leuchtkraft sowie das Wachsthum unserer Bakterien stark erhöhen. Zieht man nun neben einander drei Impfstriche resp. von Kefyrhefe, Käsehefe und Weinhefe (S. ellipsoideus) auf die Oberfläche dieses Michzuckerleuchtbodens, so bemerkt man in der Nachbarschaft derselben nach einigen Tagen einen sehr grossen Unterschied. Denn während die Leuchtkraft und das Wachsthum der Phosphorescenskolonieen in der Nähe der Weinhefe vollständig ungeändert bleibt, bilden sich rings um die Käse- und Kefyrhefe schon mit unbewaffnetem Auge bemerkbare Wachsthumsfelder, welche, im Dunkeln betrachtet, sich durch sehr hohe Leuchtkraft von dem Boden unterscheiden. Da es leicht aus Versuchen hervorgeht, dass der Aethylalkohol ohne Einfluss auf die Ph. phosphorescens ist, so geht aus dem beschriebenen Thatbestand Folgendes hervor: Erstens, dass das Invertin der Weinhefe den Milchzucker nicht invertirt — dieses war übrigens schon längst bekannt — und zweitens, dass die Kefyr- und Käsehefe ein Enzym erzeugen, welches, indem es Milchzucker wohl invertirt, von Invertin verschieden sein muss. Dieses neue Enzym habe ich Lactase genannt. Dass die Weinhefe unter diesen Bedingungen thatsächlich Invertin aussondert, geht daraus hervor, dass ein Körnchen Rohrzucker (an sich kein Leuchtstoff) in die Nachbarschaft des Impfstriches dieser Hefe auf den Leuchtboden gebracht, bald in Folge der Invertzuckerbildung zu leuchten anfängt, während diese Erscheinung auf dem enzymfreien Leuchtboden ausbleibt.

Indem ich eine 5% Milchzuckerlösung mit Salzen und $^3/_4$% Asparagin vermittels Kefyrhefe vergähren liess, abfiltrirte und das Filtrat mit Alkohol von 85% versetzte, präcipitirte daraus Roh-Lactase, welche ich für folgenden Versuch verwendete.

Ein Leuchtboden war auf genau die nämliche Weise angefertigt, wie oben beschrieben, nur mit dem Unterschied, dass ich 5% Rohrzucker anstatt Milchzucker zugefügt hatte. Auf diesen Boden wurden nun neben einander Weinhefe, Käsehefe, Kefyrhefe, Invertin und Lactase alle in ganz kleinen Prisen niedergelegt. Nach kurzer Zeit hatten sich rings um alle diese Körper Leuchtfelder gebildet von grosser und gleicher Leuchtkraft. Hieraus geht also ganz sicher hervor, dass die Lactase auch den Rohrzucker zu invertiren vermag, und, wie deshalb zu erwarten war, wird dieser Körper durch Kefyr- und Käsehefe wie der Milchzucker zu Alkohol und Kohlensäure vergohren.

Während wir also einerseits finden, dass Invertin den Milchzucker nicht zu spalten vermag, kann die Lactase nicht nur diesen Zucker, sondern auch den Rohrzucker invertiren. Die Maltose wird weder durch die Lactase noch durch das Invertin in Glucose oder Invertzucker übergeführt und durch unsere beiden Hefen auch nicht vergohren.

Over het filter Pasteur-Chamberland.

Maandblad voor Natuurwetenschappen, Amsterdam, 16e Jaargang, 28 Juni 1889, blz. 19—20.

In het voorgaand nummer van dit Maandblad worden eenige proeven beschreven, waaruit de schrijver de volgende conclusie meent te kunnen afleiden:

»Uit de verkregen uitkomsten blijkt derhalve, dat het filter Pasteur-Chamberland, zelfs bij een aanmerkelijke stroomsnelheid van het water, de microben der nitrificatie[1]) terughoudt.

Men is dus in staat met behulp van een enkele bougie en een zuigapparaat, dat gemakkelijk te vervaardigen is, zich dagelijks 5 tot 9 liter water te verschaffen, dat geacht mag worden vrij van mikro-organismen te zijn.«

Ik heb tegen deze conclusie enkele bezwaren in te brengen, welke ik hier wil mededeelen.

Vooreerst is het niet geoorloofd op alle mikro-organismen toe te passen, wat voor een bepaalden vorm geldig is. De Heer Enklaar doet dit, door aan te nemen, dat het water, wanneer daaruit het salpeterigzuur-organisme door de bougie zou kunnen worden afgefiltreerd, daarbij tevens van alle andere soorten zou worden bevrijd.

Verder komt mij de tweede der drie beschreven proeven eenigszins zonderling voor. In deze proef leest man n.l. het volgende: Het gefiltreerde water was 26 Sept. na 15 minuten kleurloos gebleven, 27 Sept. eveneens, 28 Sept. na 10 minuten nog kleurloos maar na 15 minuten flauw blauw, op 4 Oct. en 15 Oct. na 15 minuten insgelijks flauw blauw. Wanneer hierbij een organisme betrokken is, waarom heeft dit zich dan niet vermenigvuldigd? Is er wellicht iets anders afgefiltreerd, dat voor de salpetrigzuurvorming of voor het salpeterigzuur-organisme noodzakelijk is?

Vervolgens mis ik in de beschreven proeven tijdsopgaven gedurende welke het water heeft doorgestroomd, en toch schijnt de schrijver aan te nemen, dat wat in het begin van het filtreeren geschiedt, ook na eenige uren nog het geval is.

Maar ik heb zelf een paar jaren geleden een groot getal proeven met deze filters gedaan, welke mij hebben geleerd, dat zij een streng onderzoek volstrekt niet kunnen doorstaan. Daar ik bovendien veel verschil had waargenomen tusschen verschillende bougie's, heb ik mijn ervaring aan den heer Chamberland medegedeeld en hem verzocht mij zonder tusschenkomst van agenten eenige bougie's te zenden, welke naar zijn oordeel onberispelijk waren. Hij heeft dit gedaan en uit mijn proeven bleek, dat zij eer slechter dan beter waren dan het oudere fabrikaat.

---

[1]) Zoo noemt de schrijver de vorming van salpeterigzuur uit ammoniak.

Wat nu deze proeven aangaat, deze leerden het volgende: Gewoonlijk laat zich door een bougie een hoeveelheid water van één of twee liter verkrijgen welke practisch vrij is van de fijnere deeltjes, die in het water zweven. Zoodra echter de poriën van den filterwand met deze deeltjes zijn aangevuld, en dit is zeer spoedig het geval, dan loopt er troebel water door heen, dat bij stilstaan een bruinachtig precipitaat afzet, wemelend van organische deeltjes en kleine waterbacteriën.

De Chamberland-filters hebben dus uit een wetenschappelijk oogpunt geene waarde, maar ik erken gaarne, dat het water, na een Chamberland-bougie gepasseerd te zijn er in geenen deele minder op wordt.

Over gelatineculturen van ééncellige groenwieren.

Aanteekeningen van het verhandelde in de Sectievergaderingen van het Provinciaal Utrechtsch Genootschap van Kunsten en Wetenschappen. Utrecht, 1889, blz. 35–52.

De Heer M. W. Beijerinck heeft in de op 24 Juni 1889 gehouden vergadering der Sectie voor Natuur- en Geneeskunde van het Provinciaal Utrechtsch Genootschap voor Kunsten en Wetenschappen een voordracht gehouden

Over gelatineculturen van ééncellige groenwieren.

Den 10. April 1889 merkte ik op, dat sommige stilstaande wateren bij Delft door uiterst kleine wieren intensief groen gekleurd waren[1]). Deze wieren waren zoo gering van afmeting, dat zij bij het filtreeren van het water door dubbel Zweedsch filtreerpapier zeer volledig doorliepen, zoodat het filtraat bijna even groen bleef als het oorspronkelijke water.

Daar ik sinds lang levendig gewenscht had reinculturen van ééncellige groenwieren te bezitten voor het uitvoeren van zekere proeven over de zuurstofafscheiding door het bladgroen, en nu en dan reeds vergeefsche pogingen gedaan had om de gonidien van korstmossen te isoleeren, gevoelde ik mij aangespoord om deze proeven met het groene water te herhalen. Dit geschiedde met goed gevolg, zoodat ik thans van twee soorten doorloopende culturen bezit; een derde geisoleerde vorm heb ik prijsgegeven.

Het mikroskopisch onderzoek leerde, dat een belangrijk aantal soorten van ééncellige wieren, alle behoorende tot de orde der *Palmellacea* van Naegeli, bijdroegen tot het voortbrengen van de groene kleur van het water. Verreweg het algemeenste was daaronder een *Protococcacee*, welke ik voor identiek houd met *Chlorococcum protogenitum* Rabenhorst, wel bekend als een bestanddeel van de zoogenoemde Priestley'sche materie, welke in flesschen met gedistilleerd water, de langdurig in het licht hebben gestaan, als groen beslag tegen het glas wordt gevonden[2]). Daarop volgde in algemeenheid een *Rhaphidium*-soort, welke ik voor nieuw houd en *R. naviculare* zal noemen, — het zijn deze beide soorten, welke door mij werden geisoleerd. Verder vond ik *Rhaphidium fasciculatum* Naeg., en

[1]) De groene kleur was voor het oog ongeveer gelijk aan die van het gras langs den oever; door een waterlaag van enkele centimeters kon gedrukt schrift niet meer gelezen worden. In den herfst van 1888 hadden deze groene wateren in een toestand van hevige rotting onder gasontwikkeling en zwartkleuring verkeerd. In den aanvang van Juni begonnen de groene organismen te verdwijnen en aan het eind dier maand was van het verschijnsel niets meer waar te nemen. In bekerglazen in het laboratorium bewaard, bezonken de groene cellen spoedig en stierven na ongeveer 14 dagen af.

[2]) Behalve uit deze soort bestaat de »Priestley'sche stof« in hoofdzaak uit *Chlorococcum infusionum* Menegh., en *Pleurococcus vulgaris* Menegh., benevens eenige andere groene organismen in geringer aantal.

eenige *Scenedesmus*-soorten, waaronder *Sc. acutus* Meyen, *Sc. obtusus* Meyen, en *Sc. caudatus* Kützing. Al deze wieren bevatten groen chlorophyll, brengen, voor zoover ik weet, geen zwermsporen voort en zijn zelve onbewegelijk [1]).

De scheiding dezer groenwieren van de waterbacteriën is wegens het overgroote aantal en de snelheid van vermenigvuldiging der laatste in tegenstelling tot de minder talrijke en veel langzamer groeiende wieren, een taak, die geduld en inspanning vordert. Ik ben hierbij als volgt te werk gegaan.

Eer ik tot de eigenlijke isoleering kon overgaan, moest ik weten, of de groenwieren de geschiktheid bezitten om zich in gelatine te vermenigvuldigen. Deze vraag werd door de volgende voorloopige proeven bevestigend beantwoord: Een weinig van het groene water werd, met een driemaal grootere hoeveelheid van een 20 % gelatineoplossing in duinwater, gemengd, in een dunne laag uitgegoten en afgekoeld. Na het stollen ontstond daaruit een gelijkmatig lichtgroen gekleurde gelatineplaat, waarin al de organismen van het wat er in ontzaglijk aantal voorkwamen. Van dag tot dag de kleur dezer plaat, welke voor een venster in het daglicht lag, onderzoekend, zag ik reeds den vijfden dag, dat het groen in intensiteit was toegenomen, en het mikroskopisch onderzoek leerde, dat de groene cellen in kleine koloniën van twee tot acht cellen waren overgegaan. Wel is waar begon de gansche gelatinelaag onder den invloed der smeltende bacteriën te vervloeien, maar het bewijs, dat de scheiding mogelijk moest wezen, was geleverd. Deze werd nu aldus uitgevoerd.

Grachtwater werd zonder toevoeging van eenig ander voedsel met 10 % gelatine opgekookt en op de gewone wijze vóór het stollen met een klein druppeltje van het groene water gemengd. Een dergelijke bodem is zoo arm aan assimileerbare stikstof en phosphorzuur, dat alle niet smeltende bacteriën zich daarin slechts onvolkomen ontwikkelen. Heeft men nu hierin slechts een spoor van het wierenhoudende water gebracht, dan kan het getal der smeltende bacteriënkolonien gering genoeg wezen om nog na 14 dagen of drie weken aanmerkelijke gedeelten der gelatineplaten vast te laten blijven. In deze plekken nu laten zich met een loupe na den genoemden tijd de kolonien onzer wieren als donkergroene stippen herkennen. Het geluk wilde, dat de samenhang der cellen in deze koloniën zeer gering is, zoodat de verdeeling daarvan in een nieuw voedingsgelatine gemakkelijk gaat, en een volledige afzondering van de bacteriën verder geen bezwaar opleverde. Ik bepaalde mij daarbij tot de beide bovengenoemde soorten *Chlorococcum protogenitum* en *Rhaphidium naviculare*. Hoezeer ik de culturen dezer laatste soort aanhoud, heb ik daarvan geen gebruik gemaakt voor verdere proeven en zal daarbij slechts kort stilstaan.

---

[1]) Naar aanleiding van deze waarnemingen voeg ik hier de namen bij van de »Infusiediertjes«, welke volgens Ehrenberg (Die Infusionsthierchen als vollkommene Organismen, pag. 122, Berlin 1838) aanleiding kunnen geven tot groenkleuring van stilstaande wateren. Het zijn: *Monas bicolor, Uvella Bodo, Glenomorum tingens, Phacomonas Pulvisculus, Cryptomonas glauca, Cryptoglena conica, Pandorina Morum, Gonium pectorale, Chlamidomonas Pulvisculus, Volvox Globator, Astasia sanguinea* (jong), *Euglena sanguinea* (jong), *E. viridis, Chlorogonium euchlorum* en *Ophrydium versatile*. Al deze soorten zijn bewegelijk. De door mij genoemde wieren zijn ongetwijfeld aan Ehrenberg bekend geweest, maar, wegens hun onbewegelijkheid geen »afgietsel*diertjes*« zijnde, door hem niet aangevoerd.

Kua[illegible]anum na[illegible] uare [1])

De belangrijkste eigenschap van dit organisme is het afscheiden van een tryptisch enzym, waardoor de cultuur-gelatine langzaam vervloeit, voorzeker een verrassende eigenschap van een in het water vrij levend groenwier. De cellen zijn spoelvormig met korte, puntige uiteinden. Het chlorophylllichaam kleurt de geheele cel groen met uitzondering van een heldere vlek in het dikke middengedeelte; behalve een fijne korreling laat zich daarin gewoonlijk een zoogenoemd chlorophyllblaasje (zwaveldruppeltje?) herkennen. De vermenigvuldiging geschiedt uitsluitend door deeling, en wel door deelvlakken, welke ten opzichte van de lengte van de cel een schuinen stand innemen. Zij gaat evenals bij *Chlorococcum*, steeds gepaard met het afstroopen en het verlies van den celwand der moedercel. In oude culturen vindt men dientengevolge een groot aantal vliesjes, welke de gewone celstof-reacties vertoonen. Bij behandeling met jodium ontdekt men met eenige moeite een onregelmatig stervormig gedeelte van het chlorophyl, dat een violetbruine tint aanneemt, en waarschijnlijk uit een met het amylum verwant reservevoedsel bestaat (paramylum?). In oude gelatine-culturen nemen de cellen meer en meer een ellipsoidische vorm aan, zwellen eenigszins op en verliezen de puntige uiteinden; in dezen toestand zinken zij in de vervloeide gelatine naar beneden en boven de aldus gevormde groene massa bevindt zich dan een waterhelder vocht, dat suikervrij is. Kleurlooze cellen heb ik in mijn culturen niet gevonden.

Gaan wij thans over tot de beschouwing der boven door mij in de eerste plaats genoemde soort.

Chlorococcum protogenitum.

Reeds bij het microscopisch onderzoek van het groene water was ik getroffen geworden door de groote overeenkomst van de daarin voorkomende rondcellige groenwieren, met de »zoöchlorellen« van de lagere zoetwaterdieren, en deze overeenstemming verhoogde mijn verlangen om tot reinculturen te geraken. Na zes weken van voorzichtige proefneming was ik 16 Juni in het bezit van volkomen zuivere strepen, in reageerbuis-culturen, welke voor verdere proefneming overvloedig materiaal hebben geleverd en nog opleveren (October 1889).

Ons organisme smelt de cultuurgelatine niet, en schijnt daartoe onder geenerlei omstandigheid in staat te zijn. Ik bezit thans fraaie culturen op de volgende voedselmassa's [2]).

1)	1	%	Gelatine gesmolten met pancreas.
	0.5	„	Salpeterzure ammoniak.
	0.5	„	Kaliumphosphaat.
	90	„	Water.
			Gestolten met 8 % gelatine.

[1]) Dat deze soort werkelijk nieuw is durf ik niet beweren, maar Nägeli geeft daarvan geen beschrijving. De gedaante der cellen herinnert het meest aan *Dactylococcus infusionum Naeg.*, maar deze bezit zwermsporen en mijn soort niet. Waarschijnlijk is de verwantschap van ons organisme tot *Scenedesmus* groot, maar de aansluiting tot dit geslacht houd ik niet voor geoorloofd wegens het vrije leven der cellen, welke bij *Scenedesmus* tot familien zijn vereenigd.

[2]) De reactie is steeds neutraal of uiterst zwak zuur.

2) 1 % Rietsuiker.
0.2 „ Asparagine.
0.8 „ Pepton.
90 „ Water.
Gestolten met 8 % gelatine.

3) 90 % Water.
1 „ Gelatine gesmolten met pancreas.
0.5 „ Salpeterzure ammoniak.
0.5 „ Kaliumphosphaat.
Gestolten met 8 % gelatine.

4) 90 % Water.
0.5 „ Asparagine.
0.5 „ Pepton.
Gestolten met 8 % gelatine.

5) 89 % Moutextract.
2.9 „ Glucose.
0.05 „ Pepton.
0.05 „ Asparagine.
Gestolten met 8 % gelatine.

6) 91 % Water.
0.5 „ Oplosbaar zetmeel.
0.5 „ Asparagine en pepton.
Gestolten met 8 % gelatine.

7) 92 % Grachtwater.
Gestolten met 8 % gelatine alleen.

Op al deze zoo uiteenloopende mediën bleek de ontwikkeling tot mijn verrassing met nagenoeg dezelfde snelheid te geschieden, alleen in de kleur der streepculturen was veel verschil op te merken. Het donkerste groen was zichtbaar op het vijfde mengsel, dus in 't meest geconcentreerde voedsel, maar bij het mikroskopisch onderzoek bleken juist in deze bijzonder intensief gekleurde cultuur de meeste kleurlooze cellen aanwezig te zijn. Het meest gelijkmatig was het mikroskopisch beeld der cellen in de culturen op den vierden en vijfden voedingsbodem, zoodat de geringe concentratie van het voedsel op den toestand der zwakkere cellen een gunstige werking blijkt uit te oefenen. Nadat de groei gedurende een zestal weken zeer langzaam is voortgegaan, treedt daarin stilstand in en het gelukte mij niet door toevoeging van verschillende stoffen de celdeelingen in zulke oude culturen opnieuw te verlevendigen; daaraan ontleend materiaal, op versche cultuurgelatine gebracht, groeit echter opnieuw, tot de genoemde grens bereikt is. Hetzelfde verschijnsel wordt bij vele soorten van bacteriën opgemerkt en wijst waarschijnlijk op de noodzakelijkheid voor den groei van zekere tot nu toe onbekende stoffen, die in geringe hoeveelheid in het voedsel voorkomen, in ons geval dus blijkbaar in de gelatine.

Met een straks nader te omschrijven doel, heb ik met onzen *Chlorococcum* ook een zeker aantal cultuurproeven in vloeistoffen gedaan. In gesteriliseerd grachtwater geschiedt de ontwikkeling langzaam, maar bij gunstige verlichting is de hoeveelheid nieuw gevormde cellen groot. Een zeer belangrijke bevordering van

den groei heb ik echter bereikt, door aan het water vooraf 1 % gelatine toe te voegen, welke bij 40° C. door een weinig pancreaspoeder tot smelting was gebracht. Op die wijze ontstaat een licht geel vocht, waarin *Chlorococcum* na 3 of vier weken een zeer donker groen bezinksel vormt, dat gemakkelijk door afgieten van de bovenstaande heldere vloeistof kan verzameld worden. Toevoeging van salpeterzure ammoniak en kaliumphosphaat aan deze culturen had geen merkbare uitwerking. De cellen ontwikkelen zich in deze vloeistoffen zeer gelijkmatig; slechts weinige verliezen hun kleur.

Daar het mijn wensch was mijn groenwier in tegenwoordigheid van lichtbacteriën, welke aan het zeewater geadapteerd zijn, te doen leven, heb ik onderzocht in hoever de ontwikkeling in zeewater kan plaats hebben. Hierbij is gebleken, dat in gekookt zeewater de groei werkelijk mogelijk is; de deelingen geschieden daarin echter veel langzamer dan in gewoon water en het uiterlijk der cellen verandert belangrijk. Want terwijl in het uitgekookte grachtwater het bladgroen als schelpvormig lichaam ergens tegen den wand van de overigens kleurlooze cel aanligt, ziet men in het zeewater slechts korrelige, gelijkmatig groen gekleurde cellen met duidelijk herkenbaren celkern. Ook zijn de cellen in het laatste geval veel vaster met elkaar verbonden dan in het grachtwater, zoodat zij vereenigingen vormen, welke aan de welbekende gistboompjes herinneren. Toevoeging aan het zeewater van 1 % gelatine gesmolten door pancreas, heeft dezelfde gunstige uitwerking als in grachtwater. De voedingsgelatine, waarop de lichtbacterien groeien, welke behalve drie % keukenzout nog verschillende andere stoffen bevat, bleek ongeschikt te zijn voor de ontwikkeling van *Chlorococcum*. — de daarop getrokken entstrepen zijn niet gaan groeien, maar spoedig geheel verbleekt en afgestorven. Dit afsterven geschiedde echter eerst na verscheidene weken. Zal het dus moeielijk of onmogelijk zijn *Chlorococcum* en lichtbacterien gelijktijdig te doen groeien, zoo is het toch gemakkelijk *Chlorococcum* in een door lichtbacterien lichtend gemaakte voedingsgelatine geringe hoeveelheden zuurstof te laten afscheiden, wat mij uit proeven werkelijk is gebleken.

Ofschoon ik het, gelijk beneden zal blijken, nog niet met zekerheid heb kunnen bewijzen, ben ik niettemin overtuigd, dat *Chlorococcum protogenitum* zoo niet identiek, dan toch uiterst na verwant moet wezen met de zoöchlorellen van *Hydra viridis* en *Paramaecium Bursaria*, en waarschijnlijk van vele andere groene Protozoën. Ik besluit dit op grond van de wijze van voortplanting. Bij de chlorellen van *Hydra* en *Paramaecium* heb ik dit proces in hangdroppels in glaskamertjes, waarin zich het lichaam dezer dieren in fijn geweven toestand bevond, nader vervolgd en volkomen identiek bevonden met wat ik in vloeistofculturen en in voedingsgelatine bij *Chlorococcum* heb waargenomen. De vermenigvuldiging geschiedt bij beide op de twee volgende manieren[1]:

1. Bij sommige grootere cellen, welke door een of andere reden onder minder gunstige levensvoorwaarden verkeeren, geschiedt de deeling door insnoering als bij gewone bladgroenkorrels. De beide dochtercellen die daarbij ontstaan, kunnen van ver-

[1]) De vermeerdering der zoöchlorellen is voor het eerst gezien in 1873 door Balbiani, bij *Stentor polymorphus* (Claude Bernard, Leçons sur les phénomènes de la vie, T. 1, pag. 213. Pl. pag. 380, 1878). Balbiani geeft afbeeldingen van de beide door mij genoemde deelingsprocessen.

schillende grootte wezen. Dit deelingsproces moet als abnormaal worden beschouwd. Ik heb hierbij het afstroopen van den moedercelwand niet kunnen waarnemen.

2. De normale vermeerdering van *Chlorococcum* heeft aldus plaats: Nadat het lensvormige bladgroenlichaam waarschijnlijk gemeenschappelijk met het kleurlooze protoplasma zich eerst in twee, daarna in vier en eindelijk in acht gelijke deelen heeft verdeeld, waarvan het gezamenlijk volume niet grooter is dan dat van den oorspronkelijken chromatophoor, wordt de wand van de moedercel, die alles omsluit, maar reeds bij de eerste tweedeeling is opengescheurd, als een fijn kleurloos vliesje afgestooten. De 8 daarbij vrijkomende kleine protoplasten ronden zich dan spoedig af, vertoonen, als de moedercel, een lens- of schelpvormig bladgroenlichaampje en een kleurloos gedeelte, en groeien dan weldra tot de normale grootte uit, waarna zich de deeling herhalen kan.

In sommige gevallen gaat de deeling niet verder dan tot de vorming van een viertal dochtercellen; enkele malen blijven één of meer der deelproducten na de 2e deeling in den groei stilstaan, waardoor families van 5, 6 of 7 individuen kunnen ontstaan, waarbij echter steeds ten slotte de celwand der moedercel wordt afgeworpen. Dit alles kan bij de zoöchlorellen van *Hydra viridis* op volkomen dezelfde wijze worden waargenomen, met dit verschil, dat de deeling ophoudt eer het achttal bereikt is, en dat het afstroopen van den moedercelwand niet is gezien. Bij een met *Chlorococcum* na verwant organisme, namelijk *Cystococcus humicola* door Nägeli ontdekt en beschreven[1]), blijft de deeling niet na het bereiken van het achttal stilstaan, maar kan verder gaan en een groot getal zeer kleine dochtercellen opleveren.

De overige morphologische eigenschappen der zoöchlorellen van *Paramaecium* en *Hydra*, bijv. het voorkomen van een celkern, en de gedaante van de amylumachtige, in de chromatophoren gelegen lichamen, welke met jodium een bruine of lichtbruine kleur aannemen, vond ik bij *Chlorococcum* op dezelfde wijze terug.

Al deze feiten hebben mij overtuigd, dat de gewone zoöchlorellen wel niet anders dan tot het geslacht *Chlorococcum* behoorende vormen kunnen zijn. Het directe bewijs daarvoor kan ik echter tot nu toe nog niet leveren, ofschoon ik niet twijfel, dat dit mij op den duur wel gelukken zal. Ik heb namelijk bij eenige met veel zorg genomen proeven, om de chlorellen van *Paramaecium*, *Spongilla* en *Hydra* in cultuurgelatine tot koloniën te doen uitgroeien, tot nu toe geen resultaat kunnen verkrijgen. Aan deze proeven zijn echter meer bezwaren verbonden, dan dit bij oppervlakkige beschouwing van het vraagstuk het geval schijnt te wezen. Vooreerst heeft men te kampen met het ontzaglijk aantal bacteriën, welke aan of in het lichaam der dieren voorkomen en waarvan vele de gelatine doen vervloeien en dit geeft aanleiding tot het volgende bezwaar. Bij het fijnwrijven van het lichaam dezer dieren, dat noodzakelijk is voor het in vrijheid stellen der chlorellen, ontstaat een slijmige protoplasmatische zelfstandigheid, die zich niet gemakkelijk in water of in cultuurgelatine laat verdeelen; de chlorellen laten zich dientengevolge zeer moeielijk van de aanhangende bacterien scheiden, die zoodra de groei begint, juist de plaatsen, waar zich chlorellen in de voedinggelatine bevinden, deze laatste doen smelten en de proef doen mislukken. Vervolgens beschouw ik het

[1]) Gattungen einzelliger Algen, physiologisch und systematisch bearbeitet, pag. 84, Tab III E, 1840.

niet als uitgemaakt, dat de vegetatiekracht der chlorellen dezelfde is als die der vrijlevende wieren, en ik houd het voor mogelijk, dat daarin door het verblijf in het dierlijk protoplasma een vermindering kan zijn gekomen, welke het verder voortgroeien, zelfs onder overigens gunstige conditien kan vertragen. In elk geval is het zeker, dat de chlorellen in het lichaam van *Hydra viridis* voor een deel in gedesorganiseerden toestand verkeeren, en ik kan ten dien aanzien de volgende niet onbelangrijke waarneming mededeelen.

De chlorellen van *Hydra* liggen, gelijk reeds lang geleden is opgemerkt, niet tusschen maar binnen in de cellen van het entoderm, en komen zelfs volgens Hamann in de voortplantingscellen voor [1]. Het is gemakkelijk om in de grootere amoeboidcellen de chlorellen in beweging te vinden, gedragen door het stroomende protoplasma. Veelal ligt een groep van chlorellen, bestaande uit individuen van zeer verschillende grootte, in één enkele cel. Onderzoekt men nu de lichaamscellen van *Hydra viridis* zeer nauwkeurig, dan blijkt het, dat in een groot getal daarvan donkerroode pigmentkorrels voorkomen, welke uiterst klein zijn, maar niet kleiner dan de kleinste groene chlorellen. Aan de grootere onder deze roode pigmentkorrels laten zich een kleurloos blaasje en een excentrische, roode chromatophoor waarnemen. Door een zorgvuldig microscopisch onderzoek overtuigde ik mij, dat zij vreemd aan het protoplasma van *Hydra* en desorganisatie-toestanden van chlorellen zijn. Dit feit staat boven allen twijfel en is het gemakkelijkst te bevestigen door de beschouwing van die cellen in het Hydralichaam, waarin behalve de roode pigmentkorrels ook chlorellen zijn gelegen; daarbij ziet men namelijk, dat de chlorellen door alle overgangen met de pigmentkorrels zijn verbonden en dat deze laatste niets anders kunnen zijn dan kleine chlorellen, wier chromatophoren de bladgroenkleurstof tegen erytrophyll hebben verwisseld. Dat de pigmentkorrels involutietoestanden zijn door een verteringsproces van de zijde van het dierlijk protoplasma op de kleinere chlorellen uitgeoefend, houd ik voor zeker. Op grond van deze waarnemingen komt het mij niet onwaarschijnlijk voor, dat alle chlorellen, ook de normale, aan zekeren schadelijken invloed blootstaan, welke de vitaliteit vermindert in vergelijking met de vrijlevende *Chlorococcum*vormen, en de gelatineculturen bemoeielijkt. Hiermede in overeenstemming is de mededeeling van Kleinenberg volgens welke de pseudochlorophyllkorrels van *Hydra* als gewoon voedsel verteerd worden [2]. Intusschen heb ik het voornemen de cultuurproeven met het bladgroen van *Hydra* en andere soorten te herhalen.

Proeven met Chlorococcum genomen.

Wordt het groene bezinksel eener vloeistofcultuur [3]) van *Chlorococcum* met gesmolten gelatine gemengd, dan kan men, door deze massa in reageerbuizen of in dunne lagen tusschen twee glasruiten te laten stollen, gelijkmatig groen gekleurde

---

[1]) De door mij onderzochte zoogenoemde »knopzwermers« van *Hydra viridis* waren echter vrij van chlorellen.

[2]) Hydra, eine anatomisch-entwicklungsgeschichtliche Untersuchung, pag. 4, 1872.

[3]) Zoolang het groene water zelve beschikbaar was, kon daaruit door bezinken genoeg groene stof voor deze proeven verkregen worden, de bacterien werden eerst hinderlijk als de proef genomen was.

gelatine-cylinders of platen verkrijgen, welke in hooge mate geschikt zijn de zuurstof-afscheiding door het chlorophyll in het licht te bestudeeren. Ik ging daarbij op twee verschillende wijzen te werk, namelijk zonder of met een bijzondere bron voor koolzuurontwikkeling. Een tweetal mijner proeven wensch ik hier kort te beschrijven.

Koolzuurbron niet aanwezig. Aan een drietal reageerbuizen halverwege gevuld met een 20 °/o gelatineoplossing werd op het oogenblik van het stollen eenige droppels eener *Chlorococcum*cultuur toegevoegd, waardoor de gelatine een duidelijk bemerkbare groene kleur aannam. Tegelijkertijd werd een weinig indigocarmijn toegevoegd en zooveel natrium-hydrosulfiet, dat niet alleen de indigo-kleur geheel verdween, maar het reduceerend lichaam in geringe overmaat voorhanden was. Door snel afkoelen ontstond zoodoende in elke buis een lichtgroen gekleurde zuil, die zich spoedig nabij het oppervlak blauw kleurde tengevolge van de zuurstof der lucht, die langzaam in de gelatine drong. Een der drie buizen werd in donker geplaatst en bleef daarin, voor zoover de van buiten komende zuurstof nog niet was toegetreden, volkomen onveranderd. De tweede buis werd onder een stolpflesch, gevuld met koperoxyd-ammoniak, buiten in het volle licht van de Junizon geplaatst: het was alsof de buis in het donker stond, uren lang bleef het indigoblauw in gereduceerden toestand, en eerst na langen tijd was er genoeg zuurstof door de groene cellen ontwikkeld om het indigowit blauw te doen worden. De derde buis werd onder een stolpflesch, gevuld met een oplossing van dubbel chroomzure kali geplaatst, en was reeds na enkele minuten intensief blauw. Alleen dus het mengsel van rood, oranje en geel licht, dat door het bichromaat gaat, was in staat onze wieren tot zuurstofafscheiding te prikkelen.

Bij deze gelegenheid heb ik met Dr. Wysman, die mij bij het nemen der proeven ter zijde stond, de volgende opmerking gemaakt.

Nadat onze buizen van kleurloos blauw waren geworden, trad er weldra een oogenblik in, waarin zij opnieuw kleurloos werden. Al spoedig bleek ons, dat dit verschijnsel berustte op de volledige oxydatie van het indigoblauw tot een ons niet nader bekende kleurlooze stof, en dat dit alleen geschiedt onder de gezamenlijke werking van de vrije zuurstof en het licht.

Dat de zuurstof het indigoblauw in het duister niet vernietigt, bleek uit de volgende proef.

Aan gelatine, blauw gekleurd met indigocarmijn werd een weinig waterstof-superoxyd met een spoor gewone persgist toegevoegd en in een tweetal reageerbuizen tot stollen gebracht. De persgist ontleedt het waterstofsuperoxyd met stormachtige snelheid, zoodat de blauwe gelatine weldra een schuimachtig aanzien verkreeg door de tallooze zuurstofblazen, die daaruit niet konden ontsnappen. De eene dezer buizen werd in het zonlicht, de ander in het donker geplaatst, waarbij ons bleek, dat alleen de in het licht geplaatste buis zeer spoedig sneeuwwit werd, terwijl de gelatine in het donker onveranderd blauw bleef.

Wij hebben toen de proef herhaald met dit verschil, dat beide buizen, in het volle zonlicht, de een onder de stolpflesch met koperoxyd-ammoniak, de andere onder die, met bichomaat, werd geplaatst. Na weinige minuten was de eerste volkomen ontkleurd, terwijl de tweede nog na uren blauw was gebleven. Terwijl dus de roode helft van het spectrum uit de groene wieren de zuurstof afscheidt,

welke de gereduceerde indigo blauw kleurt, is het juist de violette kant, welke tot de oxydatie van het indigoblauw bij aanwezigheid van zuurstof aanleiding geeft[1].

Een andere bij die gelegenheid opgedane ervaring, verdient hier nog vermelding, omdat het niet bekend zijn daarmede aanleiding tot een onjuiste beoordeeling van de proef zou kunnen worden. Wij zagen namelijk, dat in die buizen, waarin wij de indigo met een *zeer geringe* overmaat van hydrosulfiet gereduceerd hadden, bij het blootstellen aan het licht, ook zonder de aanwezigheid van zuurstofafscheidende organismen een blauwkleuring kan intreden.

Uit eenige eenvoudige proeven schijnt te blijken, dat dit verschijnsel berust op de aanwezigheid van een kleine hoeveelheid *inactieve* zuurstof, die zich onttrekt aan de werking van het hydrosulfiet, maar onder den invloed van het licht geactiveerd wordt en zich dan met het indigowit verbindt. Men moet daarom zorg dragen, een niet al te geringe overmaat van het hydrosulfiet toe te voegen, zoodat ook deze, eerst door het licht vrij komende zuurstof gebonden kan worden. Het niet bekend zijn met deze feiten is waarschijnlijk de reden, waarom Pringsheim[2]) indigo met hydrosulfiet voor het onderzoek van de chlorophyll-functie[3]) als onbruikbaar verklaart.

Ten slotte moet ik hier nog bijvoegen, dat men bij alle proefnemingen met indigo als reactief op zuurstof zeker moet wezen, dat zwavelwaterstof en zwavelammonium geheel afwezig zijn.

Na deze uitwijdingen terugkomend op de beschreven proefnemingen met *Chlorococcum*, wensch ik er op te wijzen, dat zij het antwoord geven op de vraag, of levende groene cellen in een medium vrij van vrije zuurstof onder den invloed van het licht koolzuur kunnen ontleden, en wel, gelijk wij zagen, in bevestigenden zin. Het is echter zoo goed als zeker, dat de onder deze omstandigheid werkzame bladgroen-lichamen, zuurstof in vasten, zwak gebonden toestand bevatten, overeenkomende met de „prikkelzuurstof" der gistings-organismen, welke, volgens mijn ervaringen, daaraan niet door hydrosulfiet onttrokken kan worden.

Zuurstofafscheiding door Chlorococcum bij aanwezigheid van een koolzuurbron. Het is duidelijk, dat onder de boven beschreven omstandigheden de zuurstofafscheiding door *Chlorococcum* wegens gebrek aan vrij koolzuur niet lang zal kunnen voortduren. Om dit bezwaar op te heffen, heb ik gebruik gemaakt van een tweede organisme, dat aan de gelatine toegevoegd voor *Chlorococcum* tot koolzuurbron moet dienen. Ik heb daartoe een van die vormen gekozen, welke in de laatste jaren onder den minder juisten naam van *Torula* herhaaldelijk in de gistingsliteratuur bespreking hebben gevonden[4]). Naar mijn oordeel behooren deze organismen tot het geslacht

[1]) Uit latere proeven is mij gebleken, dat de vernietiging van de bladgroenkleurstof juist staat onder den invloed van de roode helft van het spectrum.

[2]) Berichte der d. Bot. Gesellsch. Bd. 4, pag. 87, 1886.

[3]) Dit schijnt het eerste geschied te zijn door Regnard, Comptes rendus Dec 1885, bij proeven, welke overigens als volkomen mislukt moeten beschouwd worden.

[4]) Zij zijn vooral door E. C. Hansen te Kopenhagen aan een nauwkeurig onderzoek onderworpen en in een vijftal soorten onderscheiden (Sur les *Torula's* de M. Pasteur, Meddel. fr. Carlsberg laborat. 1883 No. 3). Duclaux beschrijft ze onder den naam van »Mycolevûre« (Chimie biologique, pag. 249, 1883). Men vindt ze veelvuldig als kaamhuid op alcohol- en suikerhoudende vochten en kan ze ook gemakkelijk uit de lucht in gistingslokalen opvangen.

Mycoderma gebracht te worden en aan de door mij gecultiveerde soort geef ik den naam van *Mycoderma Spheromyces* wegens de ronde gedaante der cellen.

De reden waarom ik verwachte, dat deze *Mycoderma* gemakkelijk in denzelfden bodem met *Chlorococcum* zou kunnen gekweekt worden, was de ervaring, dat de groei daarvan zeer begunstigd wordt door verschillende suikersoorten, waarvan de aanwezigheid, gelijk wij boven zagen, vóor *Chlorococcum* niet nadeelig is, en wat hierbij bijzonder belangrijk is, dat onze *Mycoderma* uit de suiker geen andere omzettingsproducten dan koolzuur en water voortbrengt, dit alleen doet bij aanwezigheid van vrije zuurstof, en zich alleen bij aanwezigheid van dat gas vermeerdert. Tevens scheen het mij niet onverschillig, dat de *Spheromyces*-cellen in grootte overeenstemmen met die van *Chlorococcum*, zoodat de meest volkomen menging dezer twee soorten in de gelatine mogelijk is. Mijn verwachting, dat de groei en de zuurstofafscheiding van *Chlorococcum* door gelijktijdige aanwezigheid van *Spheromyces* en een weinig suiker zou worden begunstigd, is volkomen verwezenlijkt [1]). De proeven werden aldus genomen.

Aan een gesteriliseerde oplossing van 8°/o gelatine in grachtwater, werd 2°/o laevulose toegevoegd, en daaronder, op het oogenblik van het stollen, een kleine hoeveelheid *Chlorococcum*-cellen en even zooveel *Spheromyces* geschud, waarop een nauw merkbare groene tint ontstond. In diepe reageerbuizen gebracht en daarin verstijfd, is weldra een sterke zuurstofafscheiding ingetreden, en na enkele weken was de kleur bijna zwartgroen geworden, verre overtreffend al wat ik bij mijn vroegere proeven bereikt had.

Verder zag ik het volgende. Op een glasruit kleefde ik een even groot vierkant raampje van bordpapier van 2 decim. opening vast, vulde het raampje geheel met het genoemde mengsel en drukte daarop een tweede glasruit, zoodat het geheel volkomen vol was en nergens luchtblazen achterbleven. Na het stollen werden de randen der ruiten en van het bordpapier met paraffine afgesloten. Het preparaat werd toen in zwart papier gewikkeld, waarin ik echter kleine openingen knipte, die locaal het licht moesten toelaten. Voor een helder venster geplaatst waren reeds na 2 dagen sterke groeivelden, ter plaatse waar het licht was toegetreden, zichtbaar geworden, blijkbaar tengevolge, zoowel van den groei van *Chlorococcum*, die zich niet zonder licht kan vermenigvuldigen als van *Spheromyces*, die gelijk gezegd, alléén groeit bij aanwezigheid van vrije zuurstof. De localisatie van de lichtwerking was hierbij verrassend groot, want een kruis van zeer dun touw, over een der openingen gespannen, had door het plaatselijk tegenhouden van den groei een zeer duidelijk, blijvend schaduwbeeld gevormd, bestaande uit veel kleinere koloniën, dan die van het sterker verlichte veld. Deze methode van werken schijnt mij iets te beloven voor het onderzoek van de zuurstofafscheiding door het bladgroen, in de verschillende deelen van een zonnespectrum, dat op zoodanige gevoelige plaat wordt opgevangen.

---

[1]) Niettegenstaande wij boven zagen, dat zekere waarschijnlijk organische stoffen uit de omgeving in de *Chlorococcum*-cellen kunnen binnendringen en den groei daarvan bevorderen, is dit met de suikersoorten niet het geval.

Ein einfacher Diffusionsversuch.

Zeitschrift für physikalische Chemie, Leipzig, 3. Band, 188[illegible], S. [illegible]

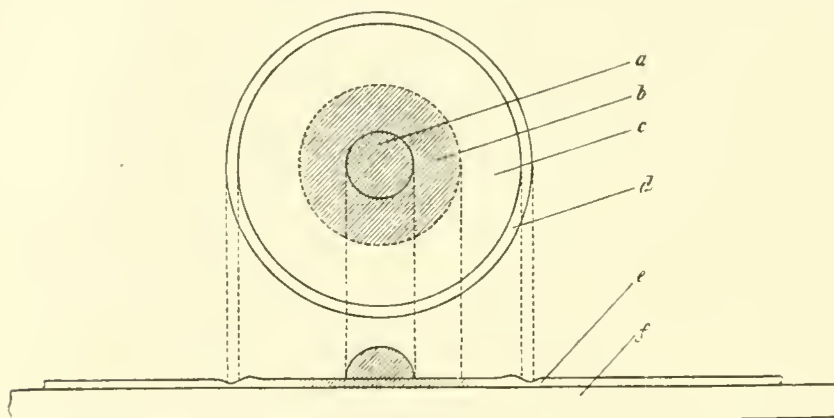
Übergiesst man eine Glasplatte mit einer sehr dünnen Schicht einer fünf- bis zehnprozentigen wässerigen Gelatinelösung, lässt sie abkühlen und erstarren, und bringt mit der Spitze eines Glasstabes einen Tropfen irgend einer Säure, z. B. Salzsäure, auf die Gelatineoberfläche, so sieht man nach einigen Augenblicken eine sehr bemerkenswerte Erscheinung. Indem nämlich die Salzsäure sich infolge der Hydrodiffusion durch die Gelatine fortbewegt, erfährt die letztere eine deutlich sichtbare Strukturänderung, welche darin besteht, dass die äussere Grenze, bis zu welcher die Säure fortgerückt ist, sich als eine ringförmige Einsenkung kundgiebt, welche einen ebenfalls ringförmigen Wall[1]) einschliesst. Dass dieser Ring, wenigstens anfangs, wirklich die Grenze, bis zu welcher die Salzsäure eingedrungen ist, anzeigt, davon kann man sich durch Bepinseln mit Silbernitrat überzeugen; erst nach mehreren Stunden eilt die Säure dem Ringe etwas voraus.

Werden bei diesen Versuchen sehr dünne Gelatineschichten angewandt, welche leicht entstehen durch rasches Abfliessenlassen der noch flüssigen Gelatine von der Glasplatte, so erfolgt die Salzsäurediffusion so schnell, dass man die Fortbewegung des sich ausdehnenden Ringes wie die Zeigerbewegung einer Uhr verfolgen kann. Zur Geschwindigkeitsmessung bedient man sich dabei am besten eines Mikroskops mit etwa 50facher Vergrösserung, unter Zuhilfenahme eines Okularmikrometers, an dessen Teilung die Fortbewegung des Ringwalles sich scharf verfolgen lässt. Natürlich ist solchen Zahlen nur relativer Wert beizulegen, denn einerseits ändert sich die Konzentration der Säure in nicht genau kontrollierbarer Weise, während andererseits die Dichte der Gelatine beim Versuche durch Wasserverlust variiert. Beide Fehlerquellen werden jedoch bedeutend vermindert bei Anwendung eines ziemlich grossen Säuretropfens und beim Arbeiten in einer möglichst feuchten Atmosphäre, wozu die Gelatineschicht an der Unterfläche des Deckels einer mit Wasser halb gefüllten kleinen Glaskammer angebracht wird. Faktisch zeigt sich dann die Geschwindigkeit genugend lange konstant, um eine Messung zu erlauben, und die erhaltenen Zahlen stimmen durchweg überein. Es sei bemerkt, dass beim Abschliessen der Gelatineschicht zwischen zwei Glasplatten zwar eine feine Linie mit unbewaffnetem Auge als Diffusionsgrenze beobachtet wird, die mikroskopische Messung ist dann jedoch, der geringen Sichtbarkeit dieser Linie wegen, unmöglich geworden, während die makroskopische Beurteilung zwar leicht ausfuhrbar, weil in 24 Stunden bis zu Dezimeter weite Strecken durchlaufen werden, allein durch die allmähliche Geschwindigkeits-

[1]) Siehe die beigefügte Abbildung *a*.

änderung, welche ihrerseits abhängig ist von der Weise der Begrenzung des Diffusionsfeldes, aber wertlos wird.

Andere Säuren verhalten sich ähnlich wie die Salzsäure, allein die äussere Begrenzung der Diffusionsgebiete ist dabei etwas verschieden gestaltet; äusserst scharf zeigt sich dabei die wechselnde Diffusionsgeschwindigkeit, und vielleicht eignet sich die in Rede stehende Methode zu deren zahlenmässigen Bestimmung. Schon mit unbewaffnetem Auge sieht man z. B. nach einigen Minuten, dass normale Salzsäure schneller diffundiert als entsprechend starke Schwefelsäure. Sehr instruktiv ist diesbezüglich die relative Grösse der Ringe, welche man beim Anbringen gleich grosser Tropfen normaler, halbnormaler, drittelnormaler Salz-



Diffusion eines Tropfens Eisenchlorid in Gelatine.

a) Eisenchloridlösung. *b*) Gelbbraunes Diffusionsfeld des Eisensalzes. *c*) Diffusionsgebiet der freien Salzsäure. *d*) Die Ringwallerscheinung. *e*) Die dünne Gelatineschicht. *f*) Die Glasplatte.

und Schwefelsäure auf einer und derselben Gelatineplatte erhält; die Mittellinien der nach gleichem Zeitintervall entstandenen Ringe gestatten eine Einsicht in den Einfluss der Konzentration wie der Diffusionskonstante.

Was schliesslich dieser Methode ein spezielles Interesse gewährt, ist die Leichtigkeit, womit bei deren Anwendung die Trennung von Gemischen erzielt wird. Bringt man z. B. normale Schwefel- und Salzsäure in gleichen Mengen zusammen und bepinselt man das durch einen Tropfen dieser Flüssigkeit entstandene Diffusionsfeld mit Chlorbarium, so zeigt sich, dass eine vollständige Trennung eingetreten ist und eine breite Salzsäurezone das Diffusionsgebiet der Schwefelsäure umgiebt. Ein Tropfen Eisenchloridlösung spaltet auf diese Weise freie Salzsäure ab, welche, wie die Abbildung zeigt, innerhalb des Ringwalles (*d*) das gefärbte eisenhaltige Diffusionsfeld (*b*) als farblosen Ring (*c*) umgiebt. Ebenso leicht tritt aus einer Lösung von Silbernitrat und Salpetersäure die freie Säure getrennt hinaus, und sehr schön gestaltet sich ein derartiger Versuch bei einer Lösung von Indigo in Schwefelsäure, weil hier zwischen Farbstoff und Säure ein sehr bedeutender Unterschied in der Diffusionsgeschwindigkeit besteht.

Sur l'aliment photogène et l'aliment plastique des bactéries lumineuses.

Archives Néerlandaises des Sciences Exactes et Naturelles, Haarlem, Tome XXIV, 1891, p. 369–442[1]). — Verscheen onder den titel: »Over lichtvoedsel en plastisch voedsel van lichtbacteriën« in Verslagen en Mededeelingen der Kon. Akademie van Wetenschappen, Afd. Natuurkunde, Amsterdam, 3de Reeks, Deel VII, 1890, blz. 239–302

1. Aperçu des espèces de Bactéries lumineuses connues jusqu'ici.

Le nombre des bactéries lumineuses venues à ma connaissance jusqu'à ce jour, s'élève, en tout, à cinq. De la troisième de ces espèces, j'ai appris à distinguer deux variétés très remarquables. Avant d'aborder l'objet du présent Mémoire, je crois devoir donner un court aperçu des espèces primaires, attendu que de nouvelles études ont apporté quelques modifications à ce que j'ai publié à ce sujet dans une occasion antérieure[2]).

Tout d'abord j'ai reconnu que les bactéries lumineuses ordinaires du poisson phosphorescent, bactéries qui ne liquéfient pas la gélatine, appartiennent à deux espèces nettement caractérisées[3]). A la plus lumineuse des deux, qui par suite est aussi le plus lumineux de tous les microbes lumineux connus jusqu'ici, j'appliquerai le nom de *Photobacterium Pflügeri* Ludwig[4]). La seconde forme, à lumière un peu plus faible, conservera le nom de *Ph. phosphorescens*.

Le poisson de mer[5]) ne m'a encore fourni que deux fois le *Ph. Pflügeri*, tandis que j'en ai isolé maintes fois le *Ph. phosphorescens*; la première espèce est donc beaucoup plus rare que la seconde.

Je dois encore faire remarquer ici que, dans les premiers temps de la mise en culture, ces bactéries lumineuses possèdent des propriétés un peu autres que celles dont elles seront douées plus tard; le *Ph. phosphorescens*, surtout, présente initialement des différences en intensité lumineuse et en stabilité ou vitalité plus grande ou plus petite des colonies et des lignes d'inoculation, différences qui s'effacent à mesure que la culture se prolonge.

Cultivé sur une gélatine nutritive ordinaire, contenant de la peptone, le *Ph. phosphorescens* a, dans les cultures jeunes, la forme d'articles courts ou micro-

---

[1]) Recherches faites au laboratoire bactériologique de la Fabrique Néerlandaise de Levûre et d'Alcool, à Delft.

[2]) *Arch. néerl.*, T. XXIII, p. 401, 1889.

[3]) M. C. B. Tilanus m'a communiqué que, depuis assez longtemps déjà, il était arrivé à un résultat analogue, lors d'une étude des bactéries lumineuses qu'il avait faite au laboratoire de M. le professeur Forster, à Amsterdam.

[4]) F. Ludwig, *Micrococcus Pflügeri*, dans *Hedwigia*, n°. 3, 1884, et *Ueber die spectroscopische Untersuchung photogener Pilze*, dans *Zeitschr. f. Mikroskopie*, Bd. I. p. 190, 1884.

[5]) Les carrelets et les filets, achetés au marché de Delft, deviennent presque sans exception plus ou moins lumineux, après avoir été conservés pendant 2 ou 3 jours dans la cave du laboratoire bactériologique de la Fabrique de Levûre.

coques plus ou moins sphéroïdaux ou oblongs, qui fréquemment sont accolés en tétrades ou groupes sarcinoïdes, mais qui se séparent facilement et montrent alors dans l'eau de mer des mouvements propres. D'ordinaire on voit dans chaque bactérie une ou deux petites taches plus foncées, qui représentent peut-être des noyaux cellulaires.

Dans les mêmes conditions, le *Ph. Pflügeri* est plus allongé et présente moins de tendance au groupement sarcinoïde. Chez cette espèce aussi, on observe dans les bâtonnets les petites taches nucléaires caractéristiques, et on voit, à l'examen microscopique dans l'eau de mer, de très nombreux individus animés de mouvements modérément rapides.

Les espèces en question font toutes les deux fermenter la lévulose et la glucose, avec dégagement de quantités égales d'acide carbonique et d'hydrogène. Mais à l'égard de la maltose, elles offrent une grande différence. Tandis que le *Ph. phosphorescens* put efaire fermenter la maltose et l'assimiler comme aliment photogénique, de la même manière qu'il le fait avec la glucose et la lévulose, le *Ph. Pflügeri*, au contraire, ne produit aucune lumière avec la maltose et n'y détermine pas de fermentation. La maltose est donc bien assimilée par le *Ph. phosphorescens*, mais non par le *Ph. Pflügeri*.

Un second couple de formes consiste sous les bactéries lumineuses de la Baltique. Toutes les deux m'ont été communiquées, conjointement avec une variété intermédiaire, que je n'ai pas étudiée de plus près, par M. le Professeur Fischer, de Kiel. Une de ces formes a été décrite par M. Fischer [1]) et a reçu de moi, plus tard, le nom de *Ph. Fischeri*. Pendant les 9 premiers mois de culture continue, elle a eu chez moi, de même que chez M. Fischer, la propriété de liquéfier fortement la gélatine; chez moi, cette aptitude a progressivement diminué, et en janvier 1890 elle était complètement perdue.

La seconde forme, que je désignerai sous le nom de *Ph. Fischeri* f. *baltica* (M. Fischer m'avait envoyé la préparation comme: »*Einheimischer Leuchtbacillus, dünne Auflagerung, sehr langsam verflüssigend*«), n'a exercé, dans l'espace de temps ci-dessus indiqué, absolument aucune action liquéfiante sur la gélatine de culture. Comme, sous la plupart des autres rapports, la ressemblance avec *Ph. Fischeri* est grande, j'ai pris ces deux organismes, dès le commencement de mes cultures, pour des modifications d'une seule et même espèce, opinion qui s'est élevée à la certitude par le fait qu'en janvier 1890, lorsque mes cultures originales du *Ph. Fischeri* avaient presque entièrement perdu le pouvoir de liquéfier la gélatine, le *Ph. Fischeri* f. *baltica* commença à présenter les premières traces de liquéfaction. En examinant toutefois ce phénomène de plus près, et par la méthode des semences en gélatine d'une seule colonie pure, je reconnus qu'il tenait à la séparation de la forme non liquéfiante en deux variétés, dont l'une est restée la forme ordinaire, tandis que l'autre liquéfie fortement et s'est démontré être parfaitement identique avec le *Ph. Fischeri* [2]). Ce qui est remarquable, c'est que le

[1]) *Centralblatt f. Bacteriologie*, Bd. 3, p. 105, 1888.

[2]) Je dois noter ici qu'une forte proportion de peptone dans la gélatine de culture entrave la liquéfaction de celle-ci par les bactéries lumineuses, en sorte que, par exemple, le *Ph. Fischeri* liquéfie encore quand il croît sur une gélatine de poisson contenant 1,2 pour cent de peptone, tandis que cela n'est plus le cas avec une teneur de 1 pour

pouvoir liquéfiant de cette variété augmente de jour en jour, de sorte que maintenant (4 mars 1890), d'une bactérie à faible force végétative, telle que l'avait été jusqu'alors chez moi le *Ph. Fischeri* f. *baltica*, il est issu une forme nouvelle douée de propriétés très actives et d'une grande force de végétation. Tandis que je n'ai jamais pu réussir à faire avec le *Ph. Fischeri* f. *baltica* des liquides lumineux, la chose est maintenant facile avec la modification liquéfiante, et, ce qui me paraît extrêmement intéressant, dans ces liquides la luminosité dépend de la peptone seule, la glycérine au contraire demeurant inactive, tandis que c'est la glycérine, combinée à la peptone, qui donne la luminosité aux cultures sur gélatine à la forme non liquéfiante. Combien doit être grand le changement survenu aux molécules vivantes de notre espèce, pour produire une paraille modification dans les phénomènes chimiques de la nutrition! Ou, plus exactement peut-être, combien l'équilibre labile dans les relations moléculaires de la matière vivante d'un organisme variable confine-t-il de près à un état stable, qui, atteint subitement ou graduellement sous des influences jusqu'ici inconnues, peut apporter un changement total dans les rapports de cet organisme avec le milieu ambiant!

Il est à peine besoin de dire que, pour le but du présent travail, l'étude spéciale de ces phénomènes de mutabilité était superflue. Je sens même qu'ils nuisent quelque peu à la netteté de chacun des résultats déjà obtenus. Néanmoins, si, comme je le ferai dans la suite, nous fixons plus particulièrement notre attention sur les formes qui se sont montrées jusqu'ici suffisamment constantes, à savoir sur le *Ph. phosphorescens* et le *Ph. indicum*, et que nous laissions provisoirement les deux autres espèces, *Ph. Fischeri* et *Ph. luminosum*, en dehors du cercle de nos recherches, celles-ci conserveront indubitablement leur valeur.

Mais je dois encore me retarder un instant sur la comparaison entre le *Ph. Fischeri* original et la modification liquéfiante du *Ph. Fischeri* f. *baltica* obtenue dans mes cultures. Ces deux formes sont-elles bien réellement identiques? Déjà à l'origine, l'aspect extérieur des colonies et l'image microscopique semblaient venir à l'appui de cette supposition, mais plus tard, lorsque l'action protéolytique de la nouvelle variété surpassait celle du *Ph. Fischeri* vieux et même celle que cette dernière forme présentait dans les premiers temps après que je l'eus reçue, tout doute était exclu. Il s'était ainsi produit, chose assez remarquable, un rapprochement entre la nouvelle forme et le *Ph. luminosum*, rapprochement beaucoup plus grand que celui qui paraissait exister d'abord entre le *Ph. luminosum* et le *Ph. Fischeri*. Mais enfin la différence entre les *Ph. Fischeri* nouvel et vieux s'est effacée parfaitement. J'ai d'ailleurs encore découvert, entre ces deux formes, un autre rapprochement très caractéristique, qui ne doit pas être passé sous silence. Elle consiste en ce que le *Ph. Fischeri* original, aussi bien que la nouvelle forme liquéfiante du *Ph. Fischeri* f. *baltica*, sont tous les deux très sensibles à l'action du sucre de canne: une quantité extrêmement petite de ce sucre augmente fortement l'intensité lumineuse de cette espèce, tandis que 1/2 pour cent suffit déjà à éteindre la lumière et à entraver le développement. Dans cette action est impliquée l'assimilation directe

cent. Il en est de même pour le *Ph. luminosum* et le *Ph. indicum*, bien que ces deux derniers parviennent bientôt à vaincre la résistance offerte par les peptones.

du sucre de canne, car ces bactéries ne sécrètent pas d'enzyme inversif. La forme non liquéfiante, *Ph. Fischeri* f. *baltica* au contraire, éprouve très peu d'effet de la part du sucre de canne: il croit et brille encore parfaitement sur une gélatine nourricière contenant 3 à 5 pour cent de cette substance. D'après cette description la bactérie de M. Fischer nous place devant le fait incontestable, qu'une espèce peut se transformer après un certain temps de culture dans deux autres formes parfaitement distinctes, qui, trouvées dans l'état sauvage par un observateur habile, peuvent être prises pour deux espèces distinctes.

Les bactéries lumineuses de la Baltique sont proches alliées des deux espèces indigènes trouvées sur le poisson de mer, bien que, de l'un à l'autre groupe, la forme des bâtonnets diffère fortement. Ceux-là, en effet, sont très déliés et ressemblent beaucoup plus aux vibrions ordinaires que ceux du poisson; ils sont aussi beaucoup plus mobiles, et, malgré leur extrême petitesse, ils se prêtent mieux à l'observation du filament locomoteur. Je terminerai ce qui concerne nos deux espèces par le remarque que ni avec le *Ph. Fischeri* f. *baltica*, ni avec le *Ph. Fischeri* lui même, je n'ai pu constater des phénomènes de fermentation.

Les trois espèces dont il a été question jusqu'ici se laissent le mieux cultiver sur une décoction de poisson dans l'eau de mer, additionnée de 1 pour cent de glycérine et de $^1/_4$ pour cent d'asparagine, et coagulée par 10 pour cent de gélatine.

Le troisième couple des formes, qui me sont connues, est composé, comme le premier, de deux espèces voisines, le *Ph. indicum* de la mer des Indes occidentales, dont je suis aussi redevable, comme je l'ai mentionné dans mon mémoire précedent, à M. le Professeur Fischer, qui l'a décrit, si amplement, sous le nom de *Bacillus phosphorescens*, et le *Ph. luminosum* de la mer du Nord, lesquelles toutefois, comme je m'en convaincs de plus en plus, diffèrent beaucoup des trois espèce nommées en premier lieu. Elles liquéfient la gélatine rapidement et complètement, et ressemblent sous maints rapports aux spirilles ordinaires de la putréfaction et à des formes de *Proteus*. Nous verrons ci-dessous que cette analogie se fait remarquer non seulement dans les caractères extérieurs, mais aussi dans les propriétés intimes.

Le pouvoir lumineux du *Ph. indicum* est très grand et vient immédiatement après celui du *Ph. phosphorescens*. Pour rendre la lumière aussi forte que possible, on doit porter les cultures à la température de 30 à 35°[1]). Il convient toutefois de laisser s'opérer l'accroissement et le développement à une température beaucoup plus basse, par exemple à celle de 15 à 20°. Autrement, un très grand nombre d'individus perdent tout ou partie de leur pouvoir lumineux, de sorte qu'on obtient des cultures en colonies présentant un mélange hétérogène des intensités lumineuses les plus diverses. La force végétative des colonies faiblement lumineuses est ordinairement plus grande que celle des colonies à lumière vive. A la suite d'une sélection répétée et prolongée, que la circonstance dont il vient d'être question m'a conduit à entreprendre, le pouvoir lumineux du *Ph. indicum* est devenu, me semble-t-il, un peu plus élevé qu'il ne l'était en juin 1888, lorsque je reçus cette

[1]) L'optimum de température pour le pouvoir lumineux paraît s'abaisser à mesure que s'élève la tension osmotique de l'aliment.

espèce de M. Fischer; celui-ci avait réussi à l'isoler de l'eau de mer phosphorescente, au cours d'un voyage aux Indes occidentales, en janvier 1886[1]).

Le *Ph. luminosum*, que dans l'été de 1888 j'ai extrait du sable de la mer du Nord[2]), est composé, dans les cultures ordinaires, de vibrions très déliés, nageant rapidement, ou de spirilles plus ou moins allongés, qui se courbent et se replient pendant la natation; tandis que le *Ph. indicum* consiste principalement en bâtonnets droits, beaucoup moins flexibles. Le pouvoir lumineux du *Ph. luminosum* est ordinairement beaucoup plus faible que celui du *Ph. indicum*; dans certaines circonstances, toutefois, il peut temporairement égaler celui de cette dernière espèce, mais pour retomber bientôt à sa valeur antérieure. L'exposition très prolongée (pendant un mois ou plus) de jeunes cultures à une basse température (celle, par exemple, d'une chambre froide, variant entre 3° et 12° C) amène notre bactérie à un état tel que, si on en trace des lignes sur un bon terrain nourricier, elles acquièrent vers 15° C leur plus haut degré de luminosité. Ce phénomène, toutefois, est alors de courte durée, tandis qu'à des températures inférieures, par exemple au-dessous de 10° C, la forte émission de lumière persiste plus longtemps.

A des températures voisines de 20°, le *Ph. luminosum*, cultivé dans la gélatine, perd presque tout à fait son pouvoir lumineux; mais les colonies s'accroissent alors très vigoureusement, se comportent comme de vraies formes de *Proteus* et dégagent de leur terrain nourricier des produits de putréfaction, à odeur fétide.

Comme toutes les bactéries lumineuses, le *Ph. luminosum* et le *Ph. indicum* sont extrêmement sensibles à la présence de petites quantités de sucre dans leur aliment. Il suffit de 1 pour cent de glucose, ou moins encore, pour éteindre complètement le pouvoir lumineux du *Ph. luminosum;* avec une dose de 3 à 5 pour cent, la bactérie ne fait plus fondre la gélatine et son accroissement subit même un arrêt total; des doses plus élevées peuvent devenir mortelles. Le *Ph. indicum* est, à la vérité, un peu moins sensible et peut, surtout en présence de l'asparagine, qui compense plus ou moins l'action nuisible de la glucose, donner encore de la lumière, malgré l'addition de 4 pour cent de ce sucre, mais si les colonies, qui dans ce cas ne liquéfient nullement la gélatine, sont examinées au microscope, on trouve que les organismes n'ont plus l'aspect de bactéries, mais ressemblent à de petits protozoaires irréguliers. Dans de pareilles conditions, la lumière s'éteint très promptement.

Ces faits tiennent à la formation d'un acide dans la substance corporelle des bactéries, lesquelles ne peuvent arriver à leur développement complet et au plein épanouissement de leurs facultés que sur un terrain neutre ou faiblement alcalin. Une très faible proportion de glucose ou de lévulose dans l'aliment, par exemple 1/20 ou 1/30 pour cent, paraît toutefois susceptible, dans certaines circonstances, d'activer à un léger degré le développement et l'intensité lumineuse; mais, pour nous, le point essentiel est que, chez le *Ph. luminosum* et le *Ph. indicum*, les peptones seules suffisent à l'accomplissement de ces deux fonctions.

---

1) A un faible différence de luminosité près, cette espèce est donc restée constante pendant quatre années.

2) *Le Photobacterium luminosum, bactérie lumineuse de la mer du Nord*, dans *Arch. néerl.*, T. XXIII, p. 401, 1889.

2. Méthodes de recherche.

Le principe sur lequel est fondée la méthode de recherche que j'ai suivie pour l'étude du *Ph. phosphorescens*, consiste à mêler un très grand nombre de ces bactéries avec une masse nutrivite insuffisante, ne contenant que quelques éléments connus de l'aliment nécessaire, puis à déterminer par l'addition de quelles substances cet aliment peut être rendu complet, c'est à dire capable d'exciter l'accroissement et la fonction lumineuse. Ces essais peuvent se faire soit dans des liquides de culture, soit dans une gélatine de culture. Dans des liquides nourriciers, on peut très bien juger de l'action lumineuse, mais l'estimation exacte de la multiplication des bactéries y est difficile. Dans la gélatine de culture, au contraire, le développement de lumière et l'accroissement des colonies se laissent déterminer tous les deux avec beaucoup de netteté, par contraste, de la manière suivante [1]).

Dans une gélatine de culture appropriée à l'action photogénique, et où l'un des éléments nutritifs se trouve en excès, on incorpore un très grand nombre de bactéries de l'espèce à étudier. Etendue en couche mince, cette masse forme une plaque fortement lumineuse. Au bout de quelque temps, l'émission de lumière cesse, et avec elle l'accroissement: à partir de ce moment, il n'y a plus disponible que l'élément nutritif ajouté en excès. Porte-t-on alors sur la couche de gélatine les substances à étudier, celles-ci se dissolvent localement dans la gélatine et, à partir du centre de dissolution, se diffusent dans toutes les directions, en un champ circulaire. Si la substance est un aliment photogénique, on voit apparaître bientôt, parfois au bout de quelques secondes, un champ lumineux, qui s'étend avec la vitesse de diffusion de la matière en question; l'extension cesse quand la totalité de cette matière a été fixée par les bactéries, qui dès lors continuent à produire de la lumière au moyen de la réserve accumulée dans leur corps. On reconnait ainsi, à première vue, que les sucres assimilables sont plus fortement absorbés que l'aliment photogénique par excellence: la glycérine. L'étendue des champs du diffusion ne dépend toutefois pas uniquement de l'absorption plus ou moins facile par les bactéries, et de l'activité et du nombre des bactéries suspendus dans la gélatine, mais aussi, comme il a été dit, de la vitesse de diffusion de la substance.

Lorsque l'aliment est propre à entretenir la croissance et la division cellulaire, son action ne se borne pas à produire un phénomène lumineux, temporaire de sa nature: il donne lieu, en outre, à un »champ d'accroissement« durable, à un »auxanogramme«[2]), caractérisé par les innombrables colonies bactériennes qui, dans le champ de diffusion de la substance nutritive, se sont développées beaucoup plus fortement qu'en dehors, d'où résulte un contraste frappant. Quand l'aliment agit de cette façon, il peut être appelé »plastique«. Je ferai remarquer, dès à pré-

---

[1]) On trouve la description de cette méthode, appliquée aux bactéries lumineuses, dans la dissertation de M. le Dr. H. P. Wijsman: *De diastase beschouwd als mengsel van maltase en dextrinase*, Amsterdam, 1889; appliquée aussi à d'autres microbes, dans mon Mémoire: *L'Auxanographie, ou la méthode de l'hydrodiffusion dans la gélatine, appliquée aux recherches microbiologiques* (*Arch. néerl.*, T. XXIII, p. 367, 1889, et *Versl. en Mededeel. d. Kon. Akad. v. Wet., Afd. Natuurk.*, Deel VI, p. 123, 1889).

[2]) Voir le Mémoire ci-dessus cité: *L'Auxanographie*, etc.

sent, que si un aliment photogénique doit toujours être plastique, la réciproque n'est pas vraie: un aliment plastique n'est pas toujours photogénique, d'où il suit que, chez les bactéries lumineuses, la production de lumière n'est en connexion nécessaire ni avec l'acte respiratoire, ni avec l'accroissement. Cela conduit déjà à présumer, — ce que d'autres faits rendent à peu près certain, — que, même dans des cultures fortement lumineuses, c'est seulement une partie de l'énergie dégagée, qui est *nécessairement et généralement* émise sous forme de lumière. Néanmoins, d'après l'observation de cas où l'accroissement des bactéries lumineuses est presque entièrement exclu, tandis que la production de lumière persiste, il me paraît probable que le rapport entre la respiration et la luminosité est assez intime pour que, *dans des circonstances déterminées* la totalité de l'énergie contenue dans l'aliment photogénique puisse s'échapper à l'état de lumière.

La méthode de la gélatine, appliquée comme il a été dit, présente toutes sortes d'avantages, qu'il est inutile d'énumérer ici de nouveau. Je noterai seulement que par elle l'étude des sucres, qui dans les cultures liquides offre de grandes difficultés à raison des acides auxquelles ils donnent naissance, est rendue facile, vu que l'acide peut se diffuser dans la gélatine.

Dans les expériences avec la gélatine, il ne faut jamais perdre de vue que la gélatine du commerce contient toujours un peu de »peptones«. A l'origine, j'ignorais cette circonstance, ce qui m'a conduit plus tard à répéter toutes mes expériences décisives dans des liquides nourriciers de composition déterminée. De cette manière, je suis arrivé à la conclusion que, sauf les peptones, il ne se trouve dans la gélatine du commerce aucune autre matière étrangère, azotée ou non, assimilable par les bactéries lumineuses.

Les bactéries qui liquéfient la gélatine, la convertissent partiellement, par leurs enzymes, en peptones[1]), de sorte que notre méthode de la gélatine ne peut alors plus être employée de la même façon et il faut avoir recours à l'agar-agar et aux liquides.

Cette remarque s'applique tout spécialement aux *Ph. indicum* et *Ph. luminosum*. Pourtant, si à une dissolution de gélatine pure dans l'eau de mer, le *Ph. indicum* est ajouté en quantité suffisante pour que, après coagulation, on obtient une plaque de gélatine fortement lumineuse, il se forme pendant les premières heures si peu de trypsine qu'on n'observe pas trace le liquéfaction. Mais place-t-on à la surface de cette couche les matières qu'on veut étudier, celles ci, au cas où il en résulte un accroissement un peu notable, donnent en même temps lieu à une forte liquéfaction, ce qui doit évidemment, à cause de la peptonisation, apporter aussi un changement aux conditions nutritives. Il est vrai que la gélatine est alors transformée en un aliment photogène n'ayant à basse température qu'une action faible, beaucoup plus faible par exemple que celle des matières photogènes des extraits de poisson; mais cette action n'en obscurcit pas moins les conclusions à tirer des expériences. Aussi, le *Ph. indicum* et le *Ph. luminosum* donnent-ils des résultats moins douteux quand ils sont cultivés dans des liquides, cas où l'on est un peu plus maître de la composition de l'aliment et où l'on peut aussi opérer plus facilement

---

[1]) Dans ces expériences, comme dans toutes les suivantes, on suppose que l'aliment contienne les phosphates nécessaires, ainsi que les autres éléments des cendres

à des temperatures elevées. Naturellement on perd, en se servant de liquides, le grand avantage résultant des différences de concentration qui se produisent d'elles-mêmes, dans les champs de diffusion, sur les plaques de gélatine. Quant à l'inclusion dans l'agar, pour une raison dont je ne me rends pas bien compte, elle entrave fortement la croissance, de sorte qu'il n'y a pas grand'chose à tirer des expériences faites par ce procédé.

Quoi qu'il en soit, des différents résultats obtenus par ces trois voies on peut conclure que les conditions nutritives des deux bactéries en question sont tout autres que celles du *Ph. phosphorescens* et du *Ph. Pflügeri*, espèces dont se rapprochent le plus, comme nous l'avons vu, les deux formes bien ou point liquéfiantes, *Ph. Fischeri* et *Ph. Fischeri* f. *baltica*.

Les susdites conditions nutritives générales seront considérées de plus près au § 4.

Le *Photobacterium phosphorescens* et le *Ph. Pflügeri* possèdent, comme il a déjà été dit plus haut (pag. 371), la propriété de faire fermenter la glucose et la lévulose avec dégagement de quantités à peu près égales d'acide carbonique et d'hydrogène. Il est facile de constater cette propriété sur des cultures par inoculation dans une gélatine nourricière, contenant lesdits sucres en proportion modérée, par exemple $^1/_4$ pour cent de glucose ou $1^1/_2$ pour cent de lévulose, ou moins encore. Ces expériences de fermentation deviennent plus élégantes, toutefois, quand on mélange la gélatine saccharifère avec une grande quantité de bactéries lumineuses, et qu'ensuite on la verse et la laisse coaguler dans un large tube. Bientôt, au bout de 24 heures par exemple, les gaz commencent à se produire, sous forme de grosses bulles, qui sont retenues par la gélatine. La fermentation du sucre ne s'opère qu'en présence de peptone et d'oxygène, ce dernier fixé, à l'état de réserve, au corps des bactéries [1]). Dès que cet oxygène de réserve est consommé, la fermentation cesse complètement. Elle ne donne jamais lieu au dégagement de lumière, mais bien à un certain degré d'accroissement. Un grand excès d'oxygène libre arrête la fermentation. On peut s'en assurer en mêlant à la gélatine nourricière un peu de peroxyde d'hydrogène; les bactéries lumineuses en dégagent l'oxygène, et c'est seulement après la disparition de celui-ci que commence la formation des bulles d'acide carbonique et d'hydrogène. J'ignore quels sont, en dehors de l'acide carbonique et de l'hydrogène, les produits de la fermentation, et ce que devient le groupe C_3H_6, qui reste après que ces deux gaz ont été soustraits à la glucose.

Je noterai encore ici que les bactéries lumineuses sont douées d'un grand pouvoir réducteur, qu'on peut mettre en évidence de la manière habituelle, en ajoutant aux cultures liquides ou sur gélatine du bleu d'indigo ou du nitre. Mais, en suspendant les bactéries en très grand nombre dans la gélatine ou l'agar qui contient les matières reductibles, l'observation se facilite beaucoup. Cette fonction est influencée à un haut degré par des circonstances accessoires, dont l'étude reste à faire.

---

[1]) Comp. mon Mémoire: *Les bactéries lumineuses dans leurs rapports avec l'oxygène* (*Arch. néerl.*, T. XXXIII, p. 416, 1889).

3. Précautions particulières.

L'exécution des expériences auxanographiques exige une quantité abondante des microbes spécifiques. C'est pourquoi il est important de connaître des bonnes conditions de culture qui donnent une riche moisson d'individus actifs.

Ainsi, pour obtenir le *Photobacterium phosphorescens* en quantité suffisante et dans un état approprié aux expériences d'émission lumineuse et d'accroissement dans les plaques solides, je fais usage d'une décoction de poisson dans le l'eau de mer[1]), à laquelle j'ajoute 1 pour cent de peptone et 2 pour cent de glycérine. Les lignes tracées sur une pareille gélatine brillent déjà d'une vive lumière au bout de 24 heures; après 2 ou 3 jours, il s'est formé à 15° C une masse bactérienne jaune grisâtre, de consistance très molle, facile à diviser dans la gélatine ou l'eau de mer, et tellement abondante qu'on peut directement l'appliquer aux expériences, sans avoir à attendre la multiplication préalable des bactéries dans la gélatine qui reçoit la semence en suspension.

Quand on n'a pas ajouté de glycérine à la gélatine de culture dont il vient d'être question et qui doit procurer la semence, l'accroissement y est très restreint; le nombre des bactéries formées est alors si faible, qu'elles ne sont pas suffisantes pour l'exécution des expériences projetées, mais le deviennent seulement après avoir été mélangées avec une gélatine nourricière dans laquelle elles puissent se multiplier et former des colonies. De là, sinon une source d'erreurs, au moins une cause de retard dans la marche de l'expérience, retard qu'on peut éviter en opérant de la manière indiquée en premier lieu.

L'addition d'asparagine à la gélatine peptonisée du poisson bouilli dans l'eau de mer, peut, tout comme celle de la glycérine, favoriser l'accroissement des bactéries; par elle aussi, on obtient des matériaux d'expérience abondants et éminemment lumineux. Lorsque, au contraire, à la susdite gélatine on ajoute à la fois de la glycérine et de l'asparagine, il en résulte une masse bactérienne d'abord très compacte, qui ne se laisse que difficilement diviser dans la gélatine ou dans l'eau de mer, et que même avec un fil de platine on a de la peine à désagréger entièrement. Ce n'est qu'au bout de plusieurs jours que ces cultures deviennent molles et utilisables. Plus tard, beaucoup d'individus meurent dans les lignes d'inoculation, ce qui, lors de la division dans la gélatine, y occasionne inutilement un trouble; des bactéries vivantes et fortement lumineuses peuvent, au contraire, même introduites en grande quantité, fournir une plaque de gélatine parfaitement transparente et d'un grand pouvoir lumineux. Il est aussi très important de conserver les cultures mères des semences, à une température basse qui ne s'élève pas au dessus de 10° C; c'est la chaleur qui est la principale cause de la dessiccation »héréditaire« des cultures, si défavorable pour les expériences.

Des terrains bien préparés avec beaucoup de bactéries actives possèdent un si haut degré de sensibilité chimique qu'au bout de quelques secondes ils réagissent

---

[1]) L'emploi d'infusions de poisson, additionnées de 3 pour cent de sel marin, pour les cultures de bactéries lumineuses, a été recommandé par M. C. B. Tilanus, dans: *Tijdschrift voor Geneeskunde*, Dl. 2, pag. 169, 1887.

déjà à l'action de beaucoup de substances, particulièrement à celle de la lévulose et de la glucose. Les réactions de Bunsen, par coloration de la flamme, trouvent ici leur anologue physiologique; elles peuvent même, au point de vue de la longue durée des phénomènes, être surpassées de beaucoup par la lumière des bactéries (voir, par exemple, p. 394).

Dans certains cas, par exemple lorsqu'on veut mettre tous les individus dans des conditions à peu près égales par rapport à l'oxygène, il convient d'ensemencer les bactéries lumineuses sur la gélatine, comme pour une culture ordinaire en colonies. A cet effet, on verse la gélatine nourricière dans une boite de verre et on la recouvre, après coagulation, d'eau de mer stérilisée, dans laquelle on a délayé les bactéries. Aussitôt après l'eau de mer est éloigné. Grâce à l'humectation de la gélatine, il s'y attache çà et là des bactéries, qui bientôt se développent en colonies. On obtient ainsi des plaques sur lesquelles les colonies de bactéries, même celles de bactéries liquéfiantes, comme le *Ph. indicum* et le *Ph. luminosum*, peuvent être soumises à l'action de substances susceptibles de diffusion.

Mais, ainsi que nous l'avons déjà fait remarquer, il vaut mieux, quand rien ne s'y oppose d'ailleurs, mélanger avec la gélatine un très grand nombre de bactéries. En effet, outre l'élément nutritif expressément ajouté en excès, le terrain de culture renferme toujours, à l'origine, de petites quantités d'aliment photogène, lesquelles proviennent, comme impuretés inévitables, de l'eau de mer, de la gélatine, de l'aliment mélangé avec celle-ci, ou enfin du mucilage bactérien lui-même. Or, si à une pareille gélatine impure on incorpore une surabondance de bactéries lumineuses, tout ce qui peut y servir comme aliment plastique et photogène complet, c'est-à-dire, tout ce qui s'y trouve dans le rapport des »équivalents plastiques« (voir § 5), est bientôt consommé, absorbé par les bactéries, pour être converti en substance bactérienne vivante ou pour être éliminé sous la forme d'acide carbonique et d'hydrogène, avec dégagement de lumière; seul, l'élément nutritif ajouté en excès, reste alors, à l'état de pureté, dans la gélatine. Les bactéries débarrassent manifestement le milieu ambiant de tout ce qui pourrait exercer une influence perturbatrice sur le cours des expériences, ou rendre incertaine l'interprétation des résultats.

Les expériences sur le *Ph. phosphorescens* et le *Ph. Pflügeri* doivent être faites à des températures comprises entre 10° et 15° C.

Pour l'établissement de terrains lumineux avec le *Ph. indicum* dans le mélange eau de mer-gélatine ou eau de mer-agar, je fais usage de cultures de ces bactéries sur la gélatine de poisson-eau de mer, additionnée de 1/2 pour cent de peptone et de 1/2 pour cent d'asparagine. J'ai reconnu, en effet, que par la présence de l'asparagine la liquéfaction est retardée, ce qui n'est pas le cas de l'accroissement, de sorte que dans une goutte de semblables cultures on trouve beaucoup de bactéries et relativement peu de matière inopportune. Comme l'optimum de température pour les fonctions vitales de cette espèce est situé bien au-dessus de celui du *Ph. phosphorescens*, savoir, au-dessus de 24° C, que le maximum de pouvoir lumineux ne s'observe que vers 30° C, et qu'en outre l'agar-agar, ainsi qu'il a déjà été dit, entrave un peu l'accroissement, l'expérimentation dans des liquides de culture est, au cas actuel, indispensable pour l'étude complète de la fonction lumineuse.

4. Les conditions générales de la nutrition

Ce n'est qu'avec le *Ph. phosphorescens* et le *Ph. indicum* que j'ai exécuté des expériences en nombre suffisant pour pouvoir me faire une idée assez complète de la relation entre l'accroissement et la luminosité de ces espèces avec leur nutrition, au point de vue des substances étudiées et dans toutes les circonstances, — une seule exceptée, — déterminées par le medium ambiant; j'ai trouvé cette nutrition relativement simple. Les *Ph. Pflügeri* et *Ph. Fischeri* s'accordent d'une manière générale avec le *Ph. phosphorescens*, mais dans les détails ils présentent des différences, en partie intéressantes, d'autre part pas encore approfondies. Le *Ph. indicum*, et avec lui le *Ph. luminosum*, se trouve dans un cas tout à fait à part. De ces deux espèces, j'ai examiné, comme je l'ai dit, avec soin la première dont j'ai trouvé la nutrition encore plus simple que celle du *Ph. phosphorescens*. Quant au *Ph luminosum*, la grande variabilité de sa fonction lumineuse en rend l'étude très difficile, mais sa nutrition ne diffère guère de celle du *Ph. indicum*.

Commençons cet aperçu sommaire par le *Ph. phosphorescens*, dont le *Ph. Pflügeri* se rapproche en tout cas suffisamment pour pouvoir être compris sous la même règle générale.

Le problème tout entier de la nutrition de ces bactéries est renfermé dans le court énoncé suivant: *L'accroissement et l'émission de lumière exigent, l'un aussi bien que l'autre, la présence simultanée d'un corps peptonique, auquel puisse être emprunté l'azote nécessaire, et d'une seconde matière, azotée ou non, comme source de carbone.* La peptone seule ne détermine ni accroissement ni production de lumière; les amides et les sels ammoniacaux des acides organiques sont dans le même cas que la peptone, attendu que ni l'azote du groupe amide, ni celui de l'ammoniaque, n'est assimilable. Réunis à la peptone, toutefois, ces amides, aussi bien que ces sels ammoniacaux, peuvent devenir aliment photogène et aliment plastique, l'azote étant éliminé à l'état de sel ammoniacal, par exemple à l'état de phosphate ammoniaco-magnésien.

Le tableau suivant rendra encore plus clair ce qui vient d'être dit:

Peptone seule	obscurité et pas d'accroissement
Asparagine seule	„ „ „ „
Glycérine seule	„ „ „ „
Malate d'ammoniaque seul	„ „ „ „
Asparagine avec glycérine	„ „ „ „
Peptone avec asparagine	lumière et accroissement
Peptone avec glycérine	„ „ „
Peptone avec malate d'ammoniaque	„ „ „
Peptone avec asparagine et glycérine	„ „ „

Très remarquable me paraît le fait que les combinaisons carbonées, telles que la glycérine, qui réunies à la peptone constituent un aliment photogène et plastique, sont, sans peptone, absolument incapables de donner lieu à la production de lumière. De pareilles matières restent très longtemps inaltérées dans les cultures obscures, comme le prouve la lumière que celles-ci dégagent quand on y ajoute de la peptone. Néanmoins, je regarde comme probable que dans un laps de temps très grand, sous l'action de la respiration sans développement de lumière, elles finissent par

disparaitre totalement. En effet, que la respiration continue en l'absence de peptones libres, c'est là une conséquence nécessaire de tout ce que nous savons au sujet de ce processus en général, et la thèse, que dans cet acte, des combinaisons carbonées sont consommées et empruntées au dehors, paraît également être d'une application universelle. Il n'est pas encore possible de juger avec une sûreté suffisante si les peptones aussi peuvent agir en ce sens; je crois, toutefois, que tel est le cas [1]).

Au sujet des conditions nutritives générales du *Ph. Fischeri* et de sa variété non liquéfiante, il y a à faire les mêmes remarques que pour le *Ph. phosphorescens*. Cependant, le *Ph. Fischeri*, possédant le pouvoir de liquéfier la gélatine, donne ainsi naissance à des peptones. Cette action est lente, mais elle peut pourtant, en présence d'une combinaison carbonée, telle que la glycérine, devenir la source d'une émission de lumière très prolongée.

En ce qui concerne, au contraire, le *Ph. luminosum* et le *Ph. indicum*, ceux-ci se comportent, par rapport à l'aliment, d'une manière toute différente du cas précédent: *Pour leur nutrition complète ils exigent seulement de la peptone, ou des matières albuminoïdes qu'ils peptonisent par leurs énergiques enzymes protéolytiques*; *ils peuvent donc de plein droit être appelés des »Bactéries à Peptone«, par opposition au groupe précédent, auquel est applicable le nom de »Bactéries à Peptone-Carbone«* [2]). La différence exprimée par ces dénominations me parait avoir une importance fondamentale. Si aux deux groupes susdits on en ajoute deux autres, ceux des *Bactéries à Amide* et des *Bactéries à Ammoniaque* et *à Nitrate*, on obtient une distribution physiologique, fondée sur le besoin d'azote, qui n'embrasse pas seulement toutes les bactéries, mais aussi beaucoup d'autres formes vivantes.

Je noterai ici que les nitrates sont fortement réduits par les bactéries lumineuses, ramenés à l'état de nitrites, et peut-être même, par les *Ph. luminosum* et *indicum*, à l'état de combinaisons ammoniacales; mais les nitrates et les nitrites, pas plus que les combinaisons ammoniacales, ne peuvent servir de source d'azote à aucune de nos bactéries phosphorescentes. Jusqu'ici je n'ai même appris à connaitre qu'un très petit nombre de microbes qui puissent tirer leur azote de l'acide nitrique; je ne doute pas, néanmoins, que des observations ultérieures feront trouver plusieurs de pareilles formes, et je m'occupe de la recherche de réactions propres à déceler leur présence dans des milieux subissant des transformations qui invitent à une étude de ce genre. Il va sans dire que, dans cet ordre d'idées, les formes hypothétiques qui fixeraient l'azote atmosphérique libre, ne sont pas perdues de vue.

Revenant aux *Ph. luminosum* et *indicum*, j'ai seulement à mentionner encore que différents corps organiques, tels que sucre de canne, sucre de lait, lévulose, maltose et glucose, ajoutés à la peptone, ne sont pas à la vérité complètement

---

[1]) Nous verrons tout à l'heure qu'il doit en être ainsi chez le *Ph. luminosum* et le *Ph. indicum*.

[2]) Ce nom n'est pas tout à fait logique, mais je ne sais pas en imaginer de meilleur pour indiquer que le groupe azoté de la peptone a besoin, dans ce cas, d'être complété par une autre matière, non peptonique, pour devenir substance organisée du corps de la bactérie. Je ne voudrais pas affirmer, toutefois, que le carbone des peptones est entièrement exclu de ce rôle, car jusqu'ici bien peu de chose m'est connu quant aux produits de sécrétion des bactéries lumineuses.

inactifs, mais nuisent, ici également, par la production d'un acide (en quantité notable surtout avec la glucose et la lévulose), à la croissance et au pouvoir lumineux. La glycérine parait agir de manière analogue. L'asparagine, au contraire, ajoutée en petite quantité, donne lieu à un accroissement de lumière, peut-être par sa conversion en combinaisons ammoniacales, qui pourraient neutraliser des acides formés à l'intérieur. Dans mes communications antérieures sur les bactéries lumineuses, j'ai dit que la glycérine peut agir, chez les *Ph. luminosum* et *indicum* aussi, comme aliment photogène; je ne m'explique pas bien comment cette erreur a pu être commise, et j'en suis réduit à supposer la présence d'impuretés dans les matières alors employées. Admettre que mes bactéries elles-mêmes auraient, dans le cours d'une année, subi une modification physiologique assez profonde pour que leur réaction aux susdites matières soit changée, cela parait impossible, car, par une sélection régulière, mes cultures sont restées, au moins sous tous les autres rapports[1]), identiques à ce qu'elles étaient originairement. Comme je ne suis arrivé qu'après une longue suite d'observations à l'intelligence précise de la signification des peptones pour nos bactéries, il n'est pas surprenant qu'au début j'aie été exposé à des méprises.

Il y a une chose, toutefois, au sujet de laquelle mon expérience est encore, même aujourd'hui, trop imparfaite, et qui pourtant peut jouer un rôle très important dans les recherches microbiennes. Je veux parler de l'état particulier où se trouvent les bactéries qui sortent à peine de l'état sauvage et son soumises pour la première fois aux conditions culturales d'un laboratoire bactériologique. On observe alors toutes sortes de changement plus ou moins notables, qui s'opèrent assez rapidement et conduisent bientôt à un état de stabilité, lequel persiste. La même variabilité se remarque chez quelques espèces qui passent simplement d'un laboratoire bactériologique à un autre. J'en citerai un exemple. Lorsque je reçus pour la première fois le *Ph. indicum* et le *Ph. Fischeri*, de M. Fischer, de Kiel, le *Ph. Fischeri*, ainsi qu'il a déjà été dit, liquéfiait fortement la gélatine. Or, après que j'eus tracé, sur de la gélatine de poisson, les premières lignes de culture, il se forma au voisinage de ces lignes un grand nombre de petites colonies entièrement isoléés, évidemment provenues de bactéries qui s'étaient déplacées à la surface de la gélatine, en s'éloignant des lignes. Je songeai d'abord à un dépôt de vapeur d'eau condensée, lequel aurait pu servir de véhicule aux bactéries; mais cette explication fut reconnue fausse. La suite de l'expérience montra bientôt que la particularité en question avait été de nature simplement temporaire et devait avoir dépendu d'un état spécifique des bactéries elles-mêmes; celles-ci avaient peut-être pris à la gélatine de hareng, sur laquele elles avaient été cultivées antérieurement, certains éléments, dont elles s'étaient débarrassées peu à peu dans mes cultures sur gélatine de poisson-eau de mer. Au reste, je ne crois pas qu'un changement de cette espèce, uniquement relatif à l'etat de motilité, ait été accompagné d'une différence dans l'aptitude à réagir par le dégagement de lumière ou l'accroissement à l'action de matières déterminées; pour une paraille hypothèse, la preuve fait défaut. Nous savons en outre, par les belles expériences de M. Engelmann et de M. Pfeffer, quelles influences extraordinairement faibles régissent les

---

[1]) Seul, le pouvoir lumineux a peut-être éprouvé une légère augmentation.

mouvements des bacteries. Il ne m'a pas semblé superflu, toutefois, de faire remarquer que nous n'avons pas encore la certitude absolue de l'inactivité, en toutes circonstances, de la glycérine sur les *Ph. indicum* et *luminosum*, bien que pour le moment, d'après toutes mes expériences postérieures, je doive admettre cette inactivité.

Je ne puis terminer ce § sans noter le fait que de la diastase (amylase) est sécrétée [1]) par les *Photobacterium luminosum* et *indicum*, en grande quantité par la première espèce, en petite quantité par la seconde. Ainsi se trouve rectifiée une erreur de mon Mémoire précédent, dans lequel je disais qu'aucune des bactéries lumineuses ne sécrète de la diastase. Cette erreur provenait du fait que la production de diastase par les bactéries est quelquefois nulle dans les cultures liquides; or, ce sont de parailles cultures qui m'avaient fait porter un jugement précipité. Si l'on trace des lignes de *Ph. luminosum* ou de *Ph. indicum* sur de la gélatine-eau de mer-poisson contenant de l'amidon, la diastase sécrétée par ces lignes très fondantes se diffuse dans la gélatine encore solide qui les entoure, de sorte que, en versant sur la masse une solution d'iode, on voit apparaitre sur un fond bleu, de larges bandes incolores, composées d'une partie liquéfiée, limitée de chaque côté par un bord solide incolore. Quelle signification faut-il attacher au sucre qui se forme en pareil cas? On ne saurait guère admettre qu'il soit sans fonction, et pourtant, comme la remarque en a déjà été faite, je n'ai pu trouver au sucre qu'une action nuisible. Il se peut, toutefois, que des actions à peine perceptibles, exercées sur la croissance ou la respiration des microbes par de faibles quantités de différentes matières, aient plus d'importance que nous ne leur en connaissons. En ce sens, les produits de l'action diastasique pourraient donc jouer un rôle pour nos bactéries [2]). Le dégât causé par le sucre à la croissance de différentes espèces de bactéries est peut-être aussi de quelque poids dans la lutte pour l'existence que les bactéries lumineuses, relativement rares, ont à soutenir contre leurs innombrables concurrents; dans ce cas, toutefois, la formation de sucre devrait à coup sûr être regardée comme une arme des plus singulières, si l'on réfléchit qu'une quantité un peu notable de sucre devient très nuisible aux *Ph. luminosum* et *indicum* eux-mêmes.

5. Equivalents plastiques chez les Microbes à Peptone-Carbone.

L'exemple suivant fera compendre ce que j'entends sous la dénomination de »équivalents plastiques«.

[1]) J'ignore encore quelles sont les conditions qui régissent ce phénomène. La présence de sucres empêche chez les bactéries lumineuses (de même que chez quelques autres espèces) la sécrétion d'un enzyme tryptique, mais non celle de la diastase. Pourtant, chez une bactérie que j'ai nouvellement trouvée, et qui sécrète une très grande quantité de diastase, la formation de cette matière est temporairement arrêtée par la présence de beaucoup de maltose dans l'aliment.

[2]) Des expériences de diffusion, faites avec le sucre de canne sur *plaques de gélatine* rendues lumineuses par le *Ph. indicum*, semblent indiquer qu'à l'état d'extrême dilution ce sucre peut déterminer un faible accroissement de lumière. Mais dans les cas où, comme ici, il ne se forme que d'étroits anneaux lumineux autour de champs obscurs, il n'est jamais certain que la matière diffusée soit la cause primaire du phénomène observé.

Precedemment, j'ai dit que la gélatine du commerce contient toujours un peu de peptones, assimilables par les bactéries lumineuses et par d'autres microbes. Dans une solution à 8 % de gélatine de la marque 329 de la fabrique de gélatine de Winterthur, cette quantité de peptone est équivalente à 1 1/2 pour cent de sucre de canne, lorsqu'il s'agit de la fermentation et de la production de levûre déterminées par le *Saccharomyces ellipsoideus* dans une mince couche de gélatine de 1 mm d'épaisseur, où lair peut facilement pénétrer et atteindre toutes les cellules, même les plus profondes. Cela signifie que la susdite solution de gélatine a 8 %, mélangée avec des cellules de levûre, de la cendre de levûre et 1 1/2 pour cent de sucre de canne, est au bout de quelque temps entièrement débarrassée de peptone et de sucre de canne, parce que les peptones de la gélatine et le sucre de canne ajouté se trouvent entre eux dans des proportions précisement telles qu'ils font naître des cellules de levûre, sans qu'il reste un excédent de l'une ou de l'autre de ces deux matières.

Un semblable rapport d'équivalence doit exister, pour les bactéries lumineuses, entre les peptones de la gélatine et toute substance qui peut, en réunion avec elles, déterminer l'accroissement et la luminosité de ces bactéries. Quel est ce rapport pour la peptone et l'aliment photogène par excellence: la glycérine? Quelle valeur a-t-il pour d'autres matières photogènes, telles que les sucres, les sels d'acides organiques, les amides? Comment se comportent à cet égard d'autres espèces de bactéries, soumises à des conditions nutritives analogues? Quelle est, dans ce cas, l'influence de l'accès plus ou moins libre de l'oxygène? Toutes ces questions, si importantes qu'elles soient en elles-mêmes, doivent être écartées ici, et pour le but que nous avons présentement en vue nous pouvons nous rendre indépendant de leur solution, en ajoutant la substance, employée conjointement avec la gélatine, en proportion supérieure à son »équivalent plastique«. C'est ainsi, par exemple, qu'une gélatine-eau de mer à 8 %, mélangée avec des bactéries lumineuses et additionnée de 2 % de glycérine, sera bientôt changée en un »terrain glycérinique« pur, parce que 2 % de glycérine est, par rapport à la quantité de peptone contenue dans la gélatine, beaucoup plus que l'équivalent plastique de la glycérine. Réciproquement, en ajoutant de la peptone en excès, on peut facilement acquérir la certitude que les matières portées sur la gélatine lumineuse ne trouvent dans leur substratum rien d'autre que de la peptone, pour donner avec elles de la lumière ou provoquer de l'accroissement. L'insuffisance actuelle de mes observations m'empêche seule de m'étendre ici davantage sur les »équivalents plastiques«, de l'importance desquels je suis d'ailleurs pleinement convaincu.

Dans ce qui précède, il a toujours été supposé que sans consommation de peptone il ne s'opère pas de dégagement de lumière, et c'est là certainement, en général, l'expression de la vérité. Il y a, toutefois, deux séries de phénomènes, dont la première ne s'accorde que difficilement, et la seconde peut-être pas du tout, avec la règle suivant laquelle la luminosité serait toujours liée à la disparition de peptones et à la formation de protoplasma. Je veux parler, en premier lieu, de l'influence que la présence de petites quantités de sucres assimilables, dans la gélatine nourricière, exerce sur la marche des actions lumineuses et sur le développement des champs de croissance. Voici l'observation.

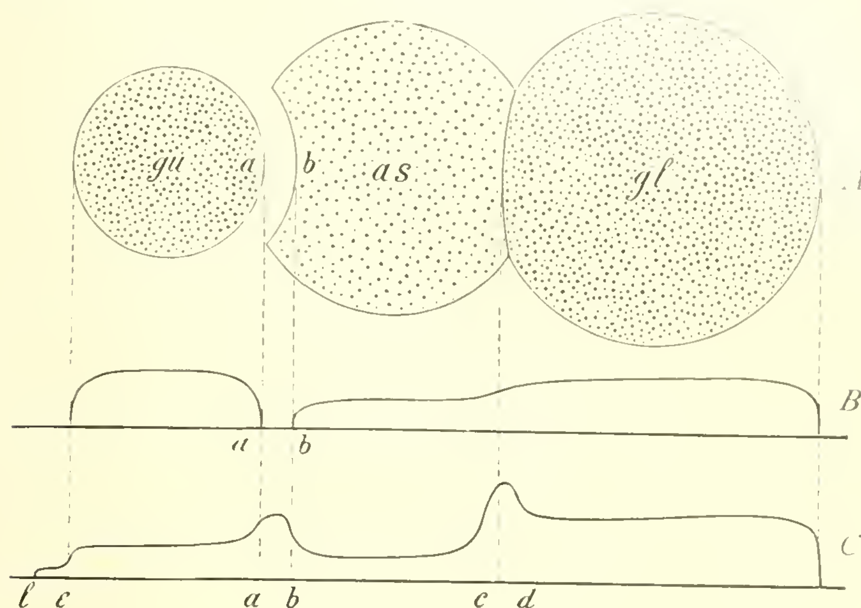
Les champs lumineux formés par les sucres sur des terrains ensemencés le

Ph. phosphorescens et contenant beaucoup de peptone mais pas de matières photogenes, sont ordinairement très brillants, mais de courte durée et remplacés par des champs d'accroissement vigoureux. Au bout de un ou deux jours, le champ perd de son intensité lumineuse ou devient complètement obscur. Tout autres sont les phénomènes lorsque le terrain, outre la peptone, contient aussi un peu de sucre, par exemple $^1/_{10}$ pour cent de glucose ou de maltose. Placés sur de pareils terrains, les sucres forment également des champs lumineux, qui toutefois sont plus étendus que dans le cas précédent, d'où il ressort que le sucre déposé à la surface est absorbé moins rapidement. Mais, ce qu'il y a de remarquable, c'est la longue durée du dégagement de lumière, qui, pour un milligramme de sucre, diffusé par un décimètre carré et à environ la moitié de l'intensité lumineuse maximum, peut continuer pendant 15 jours ou plus et est accompagné, dans ces champs, d'une croissance très faible. Avec l'asparagine, qui sur les terrains peptonisés ordinaires détermine, tout comme les sucres quoique plus tardivement, un fort dégagement de lumière et une croissance vigoureuse, l'accroissement sur de pareils terrains saccharifères peut même, paraît-il, faire presque tout à fait défaut, tandis que la luminosité demeure intense et persiste longtemps. Bien certainement, la quantité de lumière produite dans ces dernières circonstances est beaucoup plus grande que celle émise dans le premier cas, et, réciproquement, la quantité de matière vivante formée est beaucoup moindre. Il n'y a donc pas de doute que, par la présence de la faible quantité de sucre, la valeur de l'équivalent plastique n'ait été changée, en rapport évident avec la diminution d'activité dans la croissance des bactéries. Le sucre diffusé a donc été lentement brûlé en proportion plus forte que lorsqu'il y avait absence de sucre dans le terrain. J'avais d'abord pensé qu'il fallait conclure de là à l'existence de matières photogéniques, ou de conditions photogéniques, pouvant donner lieu au dégagement de lumière sans formation simultanée de nouveau protoplasma. Plus tard, je suis de plus en plus revenu de cette idée, parce que, dans *presque* tous les cas nets, j'ai pu me convaincre que la production de lumière est accompagnée de croissance, si faible que soit celle-ci. Lorsque cela m'a été impossible, il y avait le plus souvent à assigner des causes qui rendaient incertain le jugement à porter sur expériences. Telle est par exemple, l'accroissement général dans les couches de gélatine, d'où résulte pour celles-ci un aspect trouble, qui peut gêner beaucoup l'observation des champs de croissance, fondée sur l'estimation de contrastes. Ces phénomènes ne donnent donc pas de motifs suffisants pour renoncer à l'opinion que le dégagement de lumière va toujours de concert avec le passage de peptones à l'état organisé; ils tendent seulement à établir que la grandeur des équivalents plastiques est modifiée à un haut degré par toutes sortes d'influences, par exemple, dans le cas particulier dont il vient d'être question, par la présence de 0,1 pour cent de glucose dans la gélatine nourricière.

Pourtant, il y a des circonstances particulière où le rapport des sucres aux autres éléments du terrain est tel que, malgré une forte augmentation de lumière, aucun phénomène de croissance n'est perceptible et ne saurait être admise par aucune raison fondée sur l'observation directe.

C'est ce qu'on voit, par exemple, lorsque, sur un terrain de gélatine-peptone ensemencé par *Ph. phosphorescens* (voir la figure ci-dessus), un champ de diffusion

de glucose (*gu*, *A*) est amené à rencontrer un champ de diffusion d'asparagine (*as*). Là où les deux champs de croissance et de luminosité se coupent, il existe alors une bande fortement lumineuse (*ab*, *C*), sans croissance appréciable (*ab*, *B*). Cette bande correspond, comme le montre la figure, à une très faible proportion de glucose, qui, avec la peptone seule, n'a pas non plus donné d'effet de croissance net et n'a donné qu'une très faible augmentation de lumière, indiquée en *le* dans la figure.



Représentation graphique de la croissance (*A* et *B*) et de l'intensité lumineuse (*C*) des champs de diffusion de glucose (*gu*), d'asparagine (*as*) et de glycérinie (*gl*) sur gélatine-peptone avec *Ph. phosphorescens*.

En *A*, les champs de croissance, vus d'en haut, sont indiqués par des cercles. Le pointillé représente les colonies au sein de la gélatine, ou sur sa surface, disséminées dans ces champs.

En *B*, les ordonnées des courbes représentent la quantité dont la croissance dans les champs surpasse la croissance dans le terrain lui-même. Pareillement, en *C*, les ordonnées des courbes sont la représentation des excès de l'intensité lumineuse des champs sur celle du terrain.

On voit que l'intersection du champ d'asparagine (*as*) avec la limite extrême du champ de glucose (*gu*), entre les lettres *a* et *b*, est caractérisée par l'arrêt de croissance et l'augmentation de lumière (*ab* en *C*); en *le*, il y a une action lumineuse du mélange peptone-glucose, non accompagnée de croissance. A l'intersection des champs de glycérine et d'asparagine, on ne remarque pas d'augmentation de croissance, mais bien une augmentation de lumière (*cd* en *C*).

La nature chimique de la glucose est la raison principale du phénomène en question, car dans notre figure on remarque en outre l'intersection du même champ d'asparagine (*as*) avec un champ de diffusion de glycerine (*gl*), et sur cette partie commune, sans le moindre ralentissement de croissance, est seulement devenu visible un segment semi-lunaire à émission lumineuse renforcée (*cd* en *C*).

C'est un fait très remarquable que, même dans ces cas sans croissance distincte, la présence de peptones soit une condition nécessaire de la luminosité, de sorte que cette fonction ne dépend pas seulement de la glucose ou de la glycérine, mais exige, outre ces matières et l'oxygène, l'intervention simultanée de la peptone. On ne saurait donc douter, me semble-t-il, que lors du dégagement de lumière il ne doive exister, dans l'intimité du protoplasma, une cause de consommation, d'usure de la matière vivante, pouvant faire équilibre à un processus de rénovation avec absorption de peptone-sucre ou de peptone-glycérine. Si cette hypothèse est fondée, il devient clair qu'un accroissement, ou une multiplication visible des bactéries n'a pas *nécessairement* besoin d'accompagner le dégagement de lumière. Celui-ci ne pourrait s'accomplir, par contre, sans que les éléments azotés du terrain ambiant subissent d'importantes transformations chimiques.

Le second cas où l'aliment photogène n'excerce pas d'action plastique manifeste, est relatif à certaines matières peu connues, qui existent en petite quantité dans beaucoup de liquides animaux, par exemple dans le bouillon de poisson, ainsi que dans des sucs végétaux, et qui peuvent en être précipitées, en même temps que des peptones et des sels inactifs, par l'alcool; ces matières paraissent se trouver aussi à la surface d'une foule de filaments mucédinéens et de colonies de bactéries, tant chez les espèces qui liquéfient la gélatine que chez celles qui sont dépourvues de cette propriété. Les substances en question peuvent être retirées de l'extrait de pancreas, mais elles se forment aussi, bien qu'en faible quantité seulement, par l'action de l'enzyme tryptique des mucédinées et de beaucoup de bactéries, parmi lesquelles les bactéries lumineuses à peptone elles-mêmes, sur la viande, l'albumine, la caséine, la gélatine, etc. Elles paraissent résister à une ébullition prolongée et se diffuser avec des vitesses très différentes, ce qui impliquerait aussi l'inégalité de leurs volumes moléculaires. Leur propriété la plus remarquable est de pouvoir entretenir pendant longtemps, sans le concours d'autres corps, la luminosité des *Ph. phosphorescens*, *Ph. Pflügeri*, et *Ph. Fischeri*, de même que celle des *Ph. indicum* et *Ph. luminosum*; et, bien que la lumière ainsi dégagée puisse être très intense, c'est à peine si au bout de 15 jours ou d'un mois on découvre une trace d'accroissement. Peut-être avons nous ici affaire à un groupe de corps pouvant être considérés comme des combinaisons de peptones avec certaines autres substances carbonées: ces corps, après avoir pénétré dans les cellules lumineuses, y donneraient lieu, comme dans le cas précédent, à une rénovation moléculaire, qui ne serait pas nécessairement accompagnée de croissance, sans toutefois, pour cela, faire exception à la règle que la fonction lumineuse est liée au passage de peptones à l'état organisé. Provisoirement, je dois m'abstenir de plus longs details sur ces faits, et me borner à en signaler l'importance.

6. Phénomènes d'extinction causés par l'aliment photogène.

La justesse des considérations exposées au § précédent se déduit du développement des champs de diffusion produits par les matières qu'on place sur les terrains ensemencés de *Ph. phosphorescens*, et des changements qui s'y observent dans des circonstances determinées. Nous apprenons à connaitre ainsi, avant tout, deux phénomènes frappants, à savoir, l'extinction parfois occasionnée par les

matières photogènes, et l'étendue constante ainsi que l'intensité uniforme que les champs de diffusion possèdent au moment de leur action lumineuse maxima. Suivons de plus près ces deux phénomènes sur un exemple déterminé.

La glycérine est l'aliment photogène par excellence. Elle ne donne lieu à aucune fermentation, et son oxydation exige beaucoup d'oxygène libre, comme le prouve la faible épaisseur de la couche lumineuse des terrains à peptone-glycérine-*Ph. phosphorescens*. Dépose-t-on une goutte de glycérine sur un terrain à peptone-*Ph. phosphorescens* qui contienne très peu de peptone, par exemple 1 pour cent, et dont le dégagement de lumière s'entretienne encore aux dépens des matériaux de réserve des bactéries disséminées dans la gélatine, voici dans quel ordre les phénomènes se succèdent.

D'abord, un champ diffusif obscur sur le terrain lumineux; ensuite, dans ce champ obscur, retour de lumière atteignant une intensité très supérieure à celle du terrain. Le champ obscur et le champ lumineux ayant précisément les mêmes dimensions, il est certain que l'obscurcissement coïncide avec l'absorption de la glycérine, dont la diffusion s'arrête lorsque l'émission de lumière commence. Cette émission procède du dehors en dedans, d'où il résulte évidemment que la concentration plus forte exerce une action de retardement; mais, ensuite, l'intensité lumineuse devient la même sur toute l'étendue du champ, pour diminuer, plus tard encore, d'une manière également uniforme.

L'explication de ces phénomènes est, sans nul doute, la suivante.

Au moment de l'obscurcissement, la quantité de peptone contenue dans les bactéries est moindre que l'équivalent plastique de ce corps par rapport à la quantité de glycérine que les bactéries absorbent, et l'accumulation exagérée de la glycérine suspend l'exercice de la fonction lumineuse. Quand on opère sur une culture en colonies, à l'état de croissance à la surface d'une couche de gélatine-peptone, on voit que l'obscurcissement s'accompagne de l'arrêt ou d'une forte diminution de la croissance, de sorte que la formation de protoplasma, c'est-à-dire la fixation de peptone, a manifestement cessé. Lorsque les bactéries ont heureusement traversé cette période d'obscurcissement, — il est possible qu'elles y meurent, — toute la glycérine, comme nous l'avons vu, a été absorbée par les bactéries, car la diffusion de ce corps ne fait plus de nouveaux progrès; à partir de cet instant, la peptone du terrain, si petite qu'en soit la quantité, peut affluer de tous côtés, pénétrer dans les bactéries et donner lieu, avec la glycérine, à la formation de protoplasma, à l'accroissement des colonies et au dégagement de lumière. Si ce raisonnement est juste, il faut que, pour une certaine proportion de peptone dans le terrain, il n'y ait plus d'obscurcissement. A ce que je crois, toute teneur en peptone, qui est suffisante pour que cette matière pénètre dans les bactéries en quantité supérieure à celle exigée par l'équivalent plastique de la glycérine, est suffisante aussi pour prévenir l'extinction. Aussi est-il possible de préparer des terrains qui, en raison de leur forte proportion de peptone, donnent immédiatement de la lumière avec la glycérine. On ne doit pas perdre de vue, toutefois, que l'état d'activité des bactéries a sur l'imbibition de la peptone et de la glycérine une puissante influence, et que justement les causes dont cette activité dépend se laissent difficilement apprécier. C'est là ce point faible du raisonnement; mais, comme l'intensité lumineuse des bactéries offre une mesure

pour juger du degré de leur activité, il y a des chances pour que, de celle-ci même, on arrive à tenir compte.

Les phénomènes dont il vient d'être parlé ont certainement une signification générale. Chez les bactéries lumineuses, toutes les matières photogènes, — sauf la peptone, — peuvent occasionner l'obscurcissement du champ et le ralentissement de la croissance. Les matières non assimilables ne possèdent pas cette propriété. C'est ainsi que la glycérine et l'asparagine, qui sont au nombre des meilleures substances photogènes, donnent très facilement lieu à l'obscurcissement; le sucre de lait et le sucre de canne, qui ne sont pas assimilés, restent sans effet. Même le peroxyde d'hydrogène, c'est-à-dire, — puisque ce peroxyde est rapidement décomposé par les bactéries lumineuses, — même l'oxygène libre peut agir comme extincteur ou comme excitateur. D'autres organismes présentent, dans leurs champs d'accroissement, les mêmes phénomènes. C'est ainsi que la levûre ordinaire éprouve souvent un ralentissement de croissance quand on fait agir sur elle des solutions d'asparagine dépassant un certain degré de concentration. Peut-être que, dans ce cas, lactivité se laisserait apprécier par le »pouvoir fermentatif«, et le »pouvoir fermentatif« par la proportion de protoplasma contenu dans les cellules.

L'action des sucres assimilables par le *Ph. phosphorescens*, tels que la glucose, la lévulose, la maltose et la galactose, mérite encore une mention particulière. Ces matières photogènes éminemment actives donnent aussi très facilement lieu à l'extinction. L'explication de ce phénomène ne s'accorde qu'en partie avec celle donnée plus haut; ici, en effet, outre l'extinction dépendant des équivalents plastiques des sucres par rapport à la peptone, il entre encore en jeu un autre facteur, à savoir, la *formation d'un acide*.

Cette formation d'un acide, dans les cultures, est toujours accompagnée du dégagement d'un corps à odeur désagréable, qui lui-même a une réaction faiblement acide, et qui est peut-être un acide gras volatil. Cependant, les bactéries sont capables d'oxyder très lentement l'acide qu'elles ont formé elles-mêmes, tandis que je n'ai pu observer qu'elles possédassent cette faculté par rapport aux-acides formique, acétique, propionique et butyrique. Je ne doute pas, toutefois, que l'extinction des cultures sous l'influence des sucres soit réellement due à la production d'un acide, car le carbonate de soude, qui pénètre facilement dans les bactéries[1]), exerce une action favorable sur l'émission lumineuse, manifestement par la neutralisation de l'acide contenu dans les bactéries. La possibilité existe donc, à mon avis, que l'acide volatil ne soit pas identique avec celui auquel est dû l'extinction et qui peut-être ne peut nullement quitter les bactéries. Si cette explication est juste, l'acide pourrait être de l'acide lactique, de l'acide aspartique ou de l'acide succinique, car ceux-ci également peuvent être oxydés, avec dégagement de lumière, par les bactéries lumineuses de poisson.

Il faut encore noter le fait que, dans certaines circonstances, la glucose peut favoriser l'accroissement, pendant que la lumière est complètement éteinte.

[1]) Des lignes de *Ph. phosphorescens* deviennent tout à fait transparentes sous l'influence de la glucose: en déposant une goutte de carbonate de soude sur une pareille ligne, on voit les *bactéries elles-mêmes* devenir gris de cendre, évidemment parce que le carbonate de soude y pénètre.

C'est ce qu'on remarque surtout dans les lignes tracées sur des plaques de gelatine nourricière contenant de la glucose. Au microscope, on reconnait que les bactéries de ces lignes sont transformées en gros corps sphériques à structure interne particulière, de sorte qu'il reste encore à savoir si cet accroissement apparent n'est pas simplement dû au gonflement des bactéries par absorption d'eau, sans qu'il y ait eu division. Lorsque la matière de pareilles lignes est portée sur une gélatine nourricière ordinaire, exempte de sucre, le dégagement de lumière ne tarde pas à se produire, et bientôt l'état normal est rétabli aussi en ce qui concerne la forme et la division cellulaire.

7. Aliments photogènes et aliments plastiques du *Photobacterium phosphorescens*. Matières inactives et matières antiseptiques[1]).

Tandis qu'il est très facile de determiner quelles sont les matières qui peuvent servir de *sources carbone* pour le *Ph. phosphorescens*, c'est-à-dire suppléer ce qui manque à la peptone pour former un aliment plastique complet, il est beaucoup plus difficile d'apprendre à connaitre les corps qui contiennent l'*azote* sous une *forme assimilable* par notre bactérie. Pour atteindre le premier de ces deux buts, le mieux est de faire usage de ce que j'appellerai le *terrain à peptone du Ph. phosphorescens*.

Quant aux sources d'azote assimilable, j'ai cherché à les déterminer au moyen du *terrain à glycérine du Ph. phosphorescens*.

Le résultat principal auquel ces recherches ont conduit a déjà été communiqué au § 4; il revient à ce fait, que les peptones seules sont aptes à fournir l'azote, tandis que le carbone peut être emprunté aux matières les plus diverses. Je ne veux pas affirmer, bien entendu, que parmi les innombrables corps non essayés par moi, il n'y ait par des matières, autres que les peptones, pouvant servir d'aliment azoté; seulement, ces matières, si elles existent, je ne les ai pas rencontrées.

Le *terrain à peptone* peut être préparé de deux manières différentes. D'abord, on peut prendre pour tel une décoction de poisson dans l'eau de mer, à laquelle on ajoute encore 1 pour cent de peptone. Lorsque la quantité de peptone supplémentaire est moindre, elle donne aisément lieu, ainsi qu'on peut l'inférer de ce que nous avons vu plus haut, à un obscurcissement prolongé, qui occasionne du retard dans la détermination de l'aliment photogénique. Une pareille gélatine de poisson contient, outre les substances particulières dont il a été question pag. 256, une certaine quantité de matières pouvant fonctionner comme source de carbone et fournir, conjointement avec la peptone, un aliment plastique. Ces matières doivent être consommées, absorbées par les bactéries, avant que les expériences puissent commencer. Il faut donc laisser reposer pendant quelque temps ces terrains à peptone, et n'en faire usage que lorsque le pouvoir lumineux baisse. Ils montrent une grande tendance, après l'action prolongée du *Ph. phos-*

[1]) Sous le nom de matières antiseptiques je désignerai les corps qui entravent l'émission de lumière et l'accroissement.

phorescens, à déposer des cristaux de phosphate ammoniaco-magnésien, surtout quand, outre la peptone, on a ajouté un peu d'asparagine. Pour cette raison, et pour d'autres encore, je présume que les éléments supplétifs de la peptone, qui se trouvent dans une pareille gélatine de poisson, consistent, en dehors d'une trace de glycérine, principalement en corps amidés. Au surplus, je suis convaincu que toutes les matières qui existent dans les décoctions de poisson, en tant qu'elles ne constituent par des peptones, sont impropres à satisfaire au besoin d'azote de nos bactéries. En lui-même, à la vérité, ce point est d'importance secondaire, mais il ne l'est pas pour mon but; des expériences faites antérieurement avec la gélatine de poisson peptonisée, et qui plus tard n'ont plus été répétées avec la peptone seule, forment en effet la base du jugement à porter sur l'action de quelques-unes des substances qui seront nommées plus loin, et empruntent leur valeur à la certitude que le terrain ne contenait, comme source d'azote, que des peptones.

La seconde forme du *terrain à peptone* est celle-ci. De l'eau du mer, ou de l'eau des dunes additionnée de 3 pour cent de sel marin, est mélangée avec 8 pour cent de gélatine, 2 pour cent de peptone et 0,2 pour cent d'une dissolution de cendres de levûre dans l'acide chlorhydrique, neutralisée par le phosphate ou le carbonate de soude. En délayant dans ce mélange une grande quantité de *Ph. phosphorescens*, on obtient, après la coagulation, une plaque lumineuse si pauvre en matières carbonées qu'on peut immédiatement s'en servir pour les expériences, tandis que dans le terrain à gélatine de poisson les bactéries devaient préalablement subir quelques divisions. Il y a encore un autre avantage attaché à ce terrain à peptone simplifié: on peut à son aide agir directement sur l'état auquel les bactéries ont été amenées par des conditions nutritives antérieures, et celles-ci on les règle à volonté, en choisissant, pour l'ensemencement, des bactéries provenues de masses nourricières déterminées.

Pour la *gélatine à glycérine*, on peut prendre la même composition que pour la *gélatine à peptone*, à cela près, que les 2 pour cent de peptone sont remplacés par 1 pour cent de glycérine.

La teneur en peptone de la gélatine du commerce, teneur mentionnée plus haut et nullement négligeable, exige que ces terrains à glycérine soient, eux aussi, soumis d'abord pendant quelque temps à l'action épuisante du *Ph. phosphorescens*; c'est la seule manière d'acquérir la certitude qu'il ne reste plus, comme matière photogénique disponible, que la glycérine. Au bout d'environ 24 heures, à la température ordinaire de chambre, la gélatine de culture est privée d'azote assimilable, après quoi l'intensité lumineuse commence bientôt à diminuer[1]).

[1]) Au bout d'un temps très long, de deux ou trois mois par exemple, toute culture de *Ph. phosphorescens* arrive, par suite de la mort de »vieilles« bactéries, à contenir, à l'état de liberté, une substance azotée et pouvant servir d'aliment photogène. Il en résulte que les cultures de *Ph. phosphorescens*, bien établies, sont en quelque sorte immortelles. C'est ainsi que, dans mon laboratoire, un tube de Gayon rempli d'une pareille culture a continué à briller vivement depuis le jour de la préparation, 11 octobre 1888, jusqu'au moment actuel, 2 mai 1890, c'est-à-dire depuis plus de 18 mois. Cette circonstance, toutefois, ne dérange pas nos expériences, vu qu'elles sont terminées en trois ou quatre semaines.

Le terrain poisson-peptone et, à un moindre degré, le terrain à peptone ordinaire surpassent le terrain à glycérine sous le rapport de l'intensité lumineuse manifestée dans les expériences; mais tous ils restent au-dessous du pouvoir lumineux maximum que nos bactéries peuvent développer sous les conditions les plus favorables, par exemple, dans les cultures en lignes sur le terrain gélatine de poisson-eau de mer-peptone-asparagine-glycérine.

Pendant longtemps je me suis demandé quelle pouvait bien être la raison principale de ce fait. Aujourd'hui, je crois en avoir trouvé l'explication partielle dans la circonstance que le *mélange* de différentes matières favorise l'action de chacune d'elles, c'est-à-dire, que la peptone, en réunion avec la glycérine et la glucose, peut déterminer plus de luminosité et plus de croissance qu'avec chacune de ces matières séparément[1]). J'ai observé le même fait chez d'autres microbes, et j'en citerai quelques exemples, parce qu'il me parait important.

A de l'eau de mer, dans laquelle a été dissous 0,5 pour cent de peptone, on ajoute 0,1 pour cent d'asparagine, 0,2 pour cent de glycérine et une trace de bactéries lumineuses. Bientôt le liquide commence à donner une lumière très vive, et cette émission continue sans affaiblissement jusqu'à ce que l'asparagine soit totalement consommée; alors il se produit assez subitement une diminution de lumière, après quoi la luminosité ne varie plus aussi longtemps qu'il reste de la glycérine disponible.

Même dans un terrain lumineux ordinaire, préparé avec du bouillon de poisson, $^1/_2$ pour cent de peptone et des bactéries de *Ph. phosphorescens*, on peut reconnaitre assez nettement, au subit affaiblissement de lumière, le moment où l'une des matières photogènes du poisson disparait, tandis qu'il reste encore un ou plusieurs des autres éléments. De différentes observations il semble résulter que les amides de ces décoctions de poisson disparaissent les premières, la glycérine la dernière.

Autre exemple. Le mycoderme ordinaire de la bière, *Mycoderma cerevisiae*, peut, en présence d'un sel ammoniacal, *croître modérément* aux dépens de l'alcool, et *très lentement* aux dépens de la glycérine. Sur une couche de gélatine contenant, outre cet organisme, du sulfate d'ammoniaque et de la cendre de levûre, plaçons, à quelque distance l'une de l'autre, une goutte d'alcool et une goutte de glycérine: au bout de 2 ou 3 jours on verra les champs de diffusion de ces matières devenir un peu troubles par suite du développement en colonies des cellules du *Mycoderma*; le champ de diffusion de l'alcool perd sa transparence plus tôt et plus complètement que celui de la glycérine, moins facilement assimilable. Lorsque, toutefois, les gouttes de ces matières ont été placées sur la gélatine de telle sorte que leurs champs de diffusion se coupent avant que les cellules aient eu le temps de tout absorber, il se forme un champ d'intersection lenticulaire, dans lequel l'accroissement parait être encore plus énergique qu'on ne pourrait l'attendre même du concours de ce que chacune des deux matières produit séparément. Par rapport aux bactéries lumineuses, tout ceci s'applique évidemment aussi bien au dégagement de lumière et au processus respiratoire qu'au résultat de ces actes, en tant qu'il peut être rendu visible par l'accroissement.

[1]) Tel n'est pourtant pas toujours le cas, ainsi que nous l'avons vu plus haut (voir p. 254 et *a b* en *B* de la fig. p. 255).

Comment ces phénomènes doivent-ils être interpretés? Avons-nous à nous figurer, dans le protoplasma des microbes, l'existence de groupes agissant séparément et qui seraient, pour ainsi dire, autant d'adaptations spécifiques à des matières déterminées? Ou bien, faut-il songer à des états de mouvement intermittents des groupes actifs, à un état de »fatigue«, qui laisserait place à d'autres formes de mouvement et se dissiperait sous leur influence? Un argument, me semble-t-il, en faveur de la seconde hypothèse, c'est que les matières chimiques, susceptibles de donner lieux aux actions dont il s'agit, peuvent souvent être choisies tout à fait arbitrairement dans de longues séries de corps. D'un autre côté, toutefois, la constitution de la matière vivante des organismes supérieurs parait être telle qu'on doive conclure à l'existence de différences de substance entre les unités matérielles du protoplasma, unités qui servent à la fois de fondement aux fonctions spécifiques et aux formes spécifiques des organes, et qui, lorsque leur rôle devient prepondérant, font apparaître ces actions ou ces configurations[1]).

Mais, revenons aux terrains photogéniques.

Ainsi qu'on l'a déjà vu, l'activité des bactéries, et par suite leur vitesse de reaction, est beaucoup plus grande durant l'état lumineux qu'après l'extinction complète, et dès que l'aliment contenu dans le milieu ambiant a été absorbé par les bacteries, on n'a plus à craindre que cet aliment devienne une soucre d'erreurs. C'est donc avec des plaques fortement lumineuses qu'il convient d'opérer.

Cette condition sera évidemment le mieux réalisée en répartissant une très grande quantité des bacteries lumineuses dans une gélatine nourricière preparée sans faire usage de poisson. Aussi longtemps, toutefois, qu'une matière quelconque, pouvant servir d'aliment photogène, existe encore à l'état de dissolution dans la gélatine, donc en dehors du corps des bactéries, toute augmentation de sa quantité est indifférente, de sorte que, placée sur le terrain lumineux, cette matière se montre complètement inactive. Si, par exemple, une plaque est lumineuse aux dépens de glycérine libre, dissoute dans la gélatine, une goutte de glycérine, déposée sur cette plaque, est tout à fait inactive; ou bien elle donne lieu à extinction lorsque la limite de concentration déterminée par les peptones est franchie, c'est-à-dire, dès que la glycérine pénètre plus rapidement du milieu ambiant dans les bactéries que ne le font les peptones équivalentes[2]).

Au reste, il est évident que le fait en question n'induira pas facilement en erreur, quand la composition de la gélatine employée sera connue d'avance.

Pour le point suivant, au contraire, la certitude est beaucoup plus difficile à obtenir.

L'asparagine ne peut pas servir de soucre d'azote pour la glycérine, les sucres,

---

[1]) Je pense ici à la stabilité des conidies de beaucoup d'Ustilaginées et d'Ascomycetes, à celle de certains organes à accroissement continu des plantes supérieures, tels que les racines et les rhizomes, aux sexes des plantes dioïques et des animaux, à la permanence des axes latéraux des Conifères lors de la multiplication par boutures, aux formes dites »de jeunesse« ou »de transition« dans cette même classe de plantes, et à plusieurs autres phénomènes analogues.

[2]) Il ne faut pas perdre de vue, pour le jugement à porter sur ces expériences ou sur d'autres du même genre, que des colonies disséminées dans la gélatine se comportent, sous le rapport en question, un peu autrement que des bactéries isolées. Il est toujours bon de répéter une même expérience dans des conditions différentes, afin de se rendre plus indépendant de causes perturbatrices peut-être inconnues.

les acides organiques et leurs sels, ni pour les autres matières examinées par moi. En conséquence, je regarde l'asparagine comme n'étant jamais propre à céder de l'azote assimilable, tandis que, en présence de peptones, ce corps se montre un excellent aliment photogène et plastique. Peut-être, cette conclusion n'est-elle pas juste et sera-t-il prouvé par des recherches ultérieures qu'il existe des combinaisons, déterminées, azotées ou non, ou des mélanges de pareilles combinaisons, qui, ajoutés à la glycérine, amènent l'azote de ce corps sous une forme assimilable pour les bactéries lumineuses. De pareilles matières me sont toutefois inconnues, et toute conclusion ne peut naturellement reposer que sur les connaissances du moment. Pourtant, je ne crois pas que, parmi les matières dont la liste sera donnée ci-dessous, on en trouvera qui aient été mal jugées; pour cela, la marche de l'expérience est trop simple, et, une fois comprises les conditions fondamentales du dégagement de lumière et de l'accroissement, il reste à peine place au doute.

Les matières qui auraient pu occasionner le plus d'erreurs, parce que je n'avais aucun moyen d'en apprécier la pureté, telles que la kréatine, la sarcine, l'allantoïne, la neurine, sont toutes non photogéniques, de sorte qu'à leur sujet on peut seulement demander si elles ont été examinées aussi bien par rapport à la peptone, c'est-à-dire comme sources de carbone, que relativement à la glycérine, c'est-à-dire comme sources d'azote. Or, ce double examen a eu lieu, et dans aucune des deux directions les matières en question n'ont apporté le moindre changement à la lumière. Quant à savoir s'il existe d'autres corps, avec lesquels ces matières puissent constituer un aliment plastiqe, c'est là une question que je ne saurais naturellemens trancher d'une manière générale; mais je serais surpris qu'il en fût ainsi, et let sucres, qui sous ce rapport méritent en premier lieu l'attention, ne sont pas du nombre de pareils corps.

Après ce qui précède, il est suffisamment clair que la peptone ne produit pas de champ lumineux sur un terrain à peptone, mais bien sur un terrain à glycérine et sur un terrain à asparagine. De même, on comprend que l'asparagine doit être complètement inactive sur un terrain à glycérine, et qu'elle peut au contraire donner un champ lumineux brillant sur un terrain à peptone.

Nous avions déjà appris à connaître quelques-uns de ces faits au § 4, en parlant des conditions générales de la nutrition; mais il ne m'a pas semblé inutile d'entrer dans quelques répétitions, à propos d'observations sur lesquelles sont fondées des vues d'une certaine généralité.

Dans le tableau suivant, les matières qui ont fait l'objet d'une étude spéciale se trouvent réparties en trois groupes. Au premier groupe appartiennent tous les corps qui forment avec la peptone un aliment plastique complet, et les peptones elles-mêmes, qui jouent ce rôle par rapport aux corps en question. Sous le nom de peptone sera entendu le produit essentiel de la transformation de la gélatine, de l'albumine et de la caséine par la pepsine et par la trypsine, abstraction faite des différences que ce produit présente certainement dans les divers cas.

A l'exécution des expériences qui servent de base au tableau, M. le Dr. Wijsman a pris une part active; sans sa collaboration, plusieurs des substances qui y figurent auraient dû être omises. C'est à l'obligeance de M. le Professeur Van 't Hoff que je dois les sels actifs des acides malique et tartrique, comme aussi les différents aldehydes aromatiques mentionnés.

Action de différentes matières sur la luminosité et l'accroissement du *Photobacterium phosphorescens*.

	Matières Photogènes: Champs de diffusion plus lumineux que le terrain.	Matières Inactives: Champs de diffusion égaux au terrain. Pas de champs d'accroissement.	Matières Extinctives ou Antiseptiques: Champs de diffusion plus obscurs que le terrain lumineux. Pas de champs d'accroissement.
1. Hydrates de Carbone, Glucosides et Alcools.	Glucose Galactose Lévulose Maltose Glycérine	Amidon Inuline Glycogène Erythrogranulose Maltodextrine Leucodextrine Amylodextrine Arabinose Raffinose Sucre de canne Sucre de lait Dulcite Mannite Quercite Erythrite Alcool amylique Alcool éthylique Glycol Amygdaline Arbutine	Sorbine
2. Acides organiques et leur sels (non aromatiques).	Acide lactique (très faible) Lactate de chaux (très faible) Lactate de soude (très faible) Lactate de potasse (très faible) Succinate de chaux Acide malique Malate de soude Bimalate d'ammonium droit Bimalate d'ammonium gauche Bimalate d'ammonium inactif Bimalate de magnésie Acide glycérine Glycérate de chaux	Acide citrique Acide mucique Acide oxalique Oxalate d'ammonium Bioxalate d'ammonium Acide glycolique Glycolate de chaux Formiates Acétates Butyrates Acide tartrique Tartrate de chaux Acide racémique Sel de Seignette droit Sel de Seignette gauche	Tartrate d'ammonium Acide formique Acide acétique Acide propionique Acide butyrique

	Matières Photogenes: Champs de diffusion plus lumineux que le terrain.	Matieres Inactives: Champs de diffusion égaux au terrain. Pas de champs d'accroissement.	Matieres Extinctives ou Antiseptiques: Champs de diffusion plus obscurs que le terrain lumineux. Pas de champs d'accroissement
3 Amides et Analogues	Acide aspartique Asparagine Alanine Glucosamine	Glycocolle Kréatine Sarcine Allantoïne Guanine Neurine Leucine Acide urique Urée Alloxane Taurine	
4. Corps aromatiques.		Lophine Hydrobenzamide Amarine Benzaldéhyde Saligénine Acide tannique Tyrosine Phloroglucine Saccharine Quinate de chaux Acide benzoïque	Vanilline Acide hydrocinnamique Résorcine Pyrogallol Acide salicylique
5. Albuminoïdes.		Caséine Globuline Fibrine Albumine	
6. Matières diverses		Cholestérine Graisse Aldéhyde Acétate d'éthyle	Oxyde de triméthylene Cyanure de potassium Ferrocyanure de potassium Ferricyanure de potassium Ether Chloroforme Sulfure de carbone Acide sulfhydrique Sulfure d'ammonium

	Matières Photogènes: Champs de diffusion plus lumineux que le terrain.	Matières Inactives: Champs de diffusion égaux au terrain. Pas de champs d'accroissement.	Matières Extinctives ou Antiseptiques: Champs de diffusion plus obscurs que le terrain lumineux. Pas de champs d'accroissement.
7. Enzymes.		Maltase Dextrinase Ptyaline Diastase de sarrasin Diastase de pancréas Invertine Lactase Pepsine Trypsine	

Le pouvoir photogénique des acides organiques, l'acide aspartique excepté, étant faible, ou même, comme pour l'acide lactique très faible, à cause de l'influence nuisible exercée sur la fonction lumineuse par la réaction acide, le placement de ces corps dans le tableau ci-dessus comporte quelque doute. Cela est le cas, par exemple, pour l'acide citrique et l'oxalate acide d'ammonium, que j'ai parfois tenus pour des matières photogènes. En raison d'un pareil doute, l'acide malonique a été omis dans le tableau, bien que quelques expériences tendissent à le faire considérer comme dégageant de la lumière.

La place de la sorbine, parmi les matières extinctives, ne laisse pas de surprendre; mais elle résulte d'expériences répétées avec le produit dont je dispose.

Au sujet de quelques tartrates, il y eut d'abord incertitude s'il fallait les rapporter aux matières extinctives ou bien aux matières inactives. Qu'ils ne fonctionnent jamais comme matériaux photogènes, cela ne souffre aucun doute. Ce fait est remarquable, en égard à l'action lumineuse énergique des malates, et surtout quand on considère que pour quelques autres bactéries les combinaisons de l'acide tartrique sont un aliment des plus favorables.

Si dans notre tableau on trouve citées des matières telles que la lophine, l'hydrobenzamide, l'amarine, l'oxyde de triméthylène, la cholestérine et autres corps analogues, c'est parce que M. Radziszewsky a découvert que, sous l'influence de l'oxygène et d'un alcali caustique, elles peuvent devenir phosphorescentes à la température ordinaire. On voit, toutefois, que dans le tableau elles sont classées parmi les matières inactives. Les graisses donnent lieu à une remarque du même genre. Elles ont été citées parce que dans les écrits sur la phosphorescence il est si souvent dit que les organismes lumineux doivent leur propriété spécifique à la décomposition ou à l'oxydation de matières grasses. Or, c'est là une erreur. Si ces organismes étaient capables de dédoubler les graisses en glycérine et en acide gras, la glycérine pourrait servir de matière photogénique; mais un pareil dédoublement n'a pas lieu non plus.

8. Nutrition du *Photobacterium indicum* et du *Ph. luminosum.*

Bien que les conditions nutritives des bactéries lumineuses de la mer des Indes occidentales et de la mer du Nord ne soient pas complètement identiques, il y a entre elles tant d'analogie qu'on peut en traiter simultanément.

En parlant des conditions générales de la nutrition des bactéries lumineuses, j'ai indiqué que ces bactéries lumineuses, en opposition avec les *bactéries* à *peptone-carbone*, peuvent être appelées *bactéries* à *peptone*. Comme elles possèdent la propriété de sécréter un enzyme tryptique très actif, qui liquéfie et peptonise la gélatine et les matières albuminoïdes, ces bactéries sont capables, en présence des sels nécessaires, de vivre et de produire de la lumière aux dépens de pareils corps. Il faut toutefois remarquer qu'avec des conditions nutritives aussi simples le pouvoir lumineux est faible, et peut même entièrement disparaître au bout de quelque temps, sans que la multiplication perde de son énergie. On obtient des cultures bien lumineuses, — quoique ne possédant pas encore, elles non plus, le maximum possible de pouvoir lumineux, en ensemençant avec le *Ph. indicum*, de l'eau de mer dans laquelle a été dissous 1 ou 2 pour cent de peptone du commerce. A 30° C. la multiplication y est très rapide, et au bout de 24 heures, ou plus, le pouvoir lumineux égale celui du *Ph. phosphorescens*. Pour atteindre toutefois, avec le *Ph. indicum*, le plus haut effet lumineux, il convient d'employer un aliment mélangé. Comme tel, j'ai appris à connaître un bouillon de poisson modérément concentré, auquel a été ajouté un peu de peptone, par exemple ½ pour cent. Quand les cultures ont bien réussi, on obtient de cette manière des liquides très brillants et dont l'intensité lumineuse surpasse même assez notablement celles des cultures de *Ph. phosphorescens*; vus surtout à une faible lumière de gaz ou de lampe, ces liquides présentent la belle teinte vert de mer ou bleu d'azur, qui est propre au *Ph. phosphorescens*, se rencontre aussi chez des espèces fortement lumineuses du groupe des Cœlentérés et a été décrite avec admiration par différents auteurs. L'idée que sous les tropiques l'Océan peut être temporairement transformé en une pareille culture lumineuse, fait apparaître devant notre imagination un spectacle, touchant presque au surnaturel. A ce que je crois, le phénomène est bien connu des marins néerlandais, par exemple dans la mer de Banda, et désigné par eux sous le nom de »melkzee« (mer de lait)[1]. Suivant M. Fischer, l'intensité lumineuse de la »mer de lait« est plus faible que celle de l'eau de mer rendue phosphorescente par ses cultures de *Ph. indicum*[2].

Mais revenons à la nutrition de nos bactéries lumineuses à peptone.

Par l'addition de matières très variées à des cultures faiblement lumineuses

---

1) »Milky sea« des navigateurs anglais. Au sujet de ce phénomène, qui dépasse de beaucoup en magnificence la lueur produite par le *Noctiluca miliaris*, on peut consulter Fischer, *Zeitschr. f. Hygiene*, Bd. 2, p. 88, 1887, qui, au cours de 11 années passées sur mer dans des climats tropicaux et subtropicaux, l'a vu une seule fois, savoir en février 1881, à l'est de Socotra. La veille, la mer avait été couverte de méduses. Il n'est pas encore décidé si la bactérie active de ce phénomène est identique au *Ph. indicum* découvert, comme nous avons vu, par M. Fischer dans la mer des Indes occidentales.

2) Dans la mer du Nord, la lueur produite par le *Photobacterium luminosum* est plus faible que celle due au *Noctiluca miliaris*.

de *Ph. luminosum* et de *Ph. indicum* j'ai cherché à augmenter le pouvoir lumineux. Cela m'a effectivement réussi dans quelques cas, par exemple, avec l'asparagine chez les *Ph. indicum* et *luminosum*, avec la lévulose, la glucose et le sucre de canne chez le *Ph. indicum* seulement. Les trois substances nommées en dernier lieu ne peuvent être supportées qu'en quantité extrêmement petite, $^1/_{10}$ pour cent, par exemple; une proportion plus forte produit l'extinction. Sur l'accroissement elles n'ont pas d'action favorable, et même elles le ralentissent. En général, le maximum de pouvoir lumineux parait bien être lié à la division et à l'accroissement, mais non à la division la plus rapide, ni à l'accroissement le plus énergique. Pour les phénomènes de fermentation, qu'ils soient dus à des bactéries ou à des levûres ordinaires, j'ai observé quelque chose d'analogue. Dans les matras où ces organismes produisent des fermentations extrêmement fortes, la vitesse de multiplication est relativement petite: et, si une culture très lumineuse de *Ph. indicum* dure beaucoup plus longtemps qu'une culture peu lumineuse, dans laquelle on voit se former bientôt d'épaisses pellicules bactériennes, il en est de même pour certaines fermentations bactériennes de matières albuminoïdes, par exemple, pour la fermentation scatolique, due à un organisme qui se trouve dans la terre et détermine la putréfaction.

Pour les expériences sur les *Ph. indicum* et *luminosum* cultivés en terrain solide, je n'ai, à l'origine, employé que l'agar-agar. Dans une pareille masse, toutefois, la division et la formation des colonies paraissent rencontrer des difficultés, et jusqu'ici je n'y ai pas obtenu, avec ces espèces, des résultats aussi nets qu'avec les autres. Pourtant, je puis citer une couple d'expériences assez instructives. Elles avaient rapport à l'action de l'albumine d'œuf, de la caséine, de la fibrine et du gluten de froment. De petites quantités de ces matières furent portées sur des terrains d'agar ensemencés de *Ph. indicum*, qui avaient d'abord donné de la lumière avec la peptone, mais commençaient à s'obscurcir. Elles y produisirent des champs diffusifs de petite dimension, qui, en intensité lumineuse aussi bien qu'en accroissement, surpassaient un peu le terrain, mais nullement dans la mesure où cela est le cas dans les expériences analogues avec le *Ph. phosphorescens* et le *Ph. Pflügeri*, lorsqu'on ajoute un aliment plastique à des terrains de gélatine faiblement lumineux.

Quoi qu'il en soit, il est certain que les corps albuminoïdes insolubles, ci-dessus nommés, peuvent servir d'aliment photogène et plastique à nos bactéries à peptone. Pour cela, la trypsine sécrétée par ces bactéries lumineuses doit évidemment rendre solubles les corps en question et les transformer en matières diffusibles. Les dimensions des champs de diffusion, en tant que'lles devenaient visibles par l'accroissement d'activité des bactéries, étaient d'ailleurs beaucoup moindres qu'on n'eût dû le présumer d'après la vitesse diffusive de la peptone du commerce, telle que l'avaient établie les expériences faites avec le *Ph. phosphorescens*. Une semblable préparation de peptone ayant toutefois été placée, comme terme de comparaison, sur une plaque d'agar-*Ph. indicum*, cette préparation donna, elle aussi, un champ beaucoup plus petit qui'l n'était à prévoir. J'en reçus l'impression que la peptone du commerce est un mélange d'au moins deux matières, de vitesse diffusive inégale; la moins diffusible serait la cause principale, sinon la cause unique, de la luminosité des bactéries à peptone, tandis que, chez le *Ph. phosphorescens* et les autres bactéries lumineuses à peptone-carbone, cette fonction serait rendue possible aussi par la matière plus rapidement diffusible, jointe à la

glycérine ou à d'autres corps carbonés. Nous avons vu, plus haut, que le *Ph. phosphorescens* peut dégager de la lumière et croître faiblement sous l'influene de certaines matières sécrétées par des microbes vivants, matières qui se trouvent aussi dans les précipités alcooliques des décoctions de tissus animaux et végétaux, par exemple, de poudre de pancréas. Ici, je ferai remarquer qu'il paraît y avoir une certaine analogie entre ces matières et l'aliment photogène et plastique lentement diffusible des bactéries à peptone, tel que nous l'avons vu se former par l'action de l'enzyme tryptique sur la gélatine, l'albumine, la caséine et le gluten.

Dans les derniers temps, j'ai essayé de faire coaguler des cultures de *Ph. indicum* au moyen de la gélatine, et d'exécuter, avec les plaques lumineuses ainsi préparées, des expériences de nutrition. J'ai reconnu que cela réussit parfaitement et que des résultats peuvent être obtenus avant que ne commence la liquéfaction par l'enzyme sécrété. Ce fait un peu inattendu est la conséquence de ce qu'on doit opérer à basse température, et qu'alors la sécrétion de trypsine et la croissance sont extrêmement lentes. La décoction de poisson, concentrée par évaporation, donne sur un pareil terrain un large champ très lumineux, qui toutefois se liquéfie bientôt. La peptone et l'asparagine donnent, chacune à part, de faibles phénomènes de lumière et d'accroissement. Le sucre de canne, la glucose et la levulose déterminent une forte extinction, en même temps que la sécrétion d'un acide. Ces diverses réactions sont complexes, et l'on sait peu de chose relativement à l'influence que les matières en question y exercent sur la sécrétion de la trypsine, et à la transformation, si faible soit-elle, que la gélatine doit simultanément subir.

Les bactéries lumineuses à peptone ne forment nullement, en ce qui concerne le chimisme de leur nutrition, un cas isolé. Il me semble que tous les *Spirilles* et les *Vibrions*, un peu connus jusqu'ici, vivent d'une manière entièrement semblable, c'est-à-dire, empruntent leur aliment plastique exclusivement à des peptones, qu'ils peuvent, tout comme le *Ph. indicum*, à l'aide de leur enzyme tryptique, préparer aux dépens des matières albuminoïdes. Ainsi, M. Hueppe a montré que les spirilles du choléra, découverts par M. Koch, se laissent cultiver dans le contenu des œufs, par exemple, en pratiquant à la coquille une petite ouverture, à travers laquelle on introduit une trace de bactéries dans le blanc. Moi même j'ai cultivé quelques spirilles marins sur gélatine-eau de mer, sans aucun autre aliment, et j'ai obtenu de cette façon un accroissement vigoureux; toutes sortes de matières, ajoutées à la gélatine, restèrent inactives. Un bacille pigmentaire extrêmement intéressant, qui est généralement répandu dans la terre, croît, en sécrétant une matière colorante violette et en produisant un enzyme doué d'un grand pouvoir de liquéfaction, sur la gélatine pure, ainsi que dans le lait aux dépens de la caséine. Je suis même porté à croire que ce qu'on entend par putréfaction est toujours une transformation de corps albuminoïdes sous l'influence de bactéries à peptone. Cela est indubitablement vrai pour ce qui concerne la plus commune de toutes les bactéries de la putréfaction, le *Bacillus fluorescens liquefaciens*, qui peut aussi vivre parfaitement de gélatine seule, et qui est la cause ordinaire de l'altération des décoctions de pois et de haricots. Un des bacilles de la putréfaction dite pancréatique vit et agit d'une manière analogue. Quant à la formation ou non-formation de produits accessoires fétides, elle paraît dépendre aussi bien de la nature chimique du corps attaqué, notamment de la présence ou de l'absence du soufre

ou du phosphore dans la formule chimique, que de l'etat physiologique des bactéries elles mêmes. Que ce dernier facteur, à savoir l'état des bactéries, doit avoir de l'influence dans le phénomène, c'est ce qui ressort, par exemple, du fait suivant: le *Photobacterium luminosum*, qui à basse température ne forme aux dépens de la gélatine que des produits inodores, détermine, après y avoir été cultivé quelques jours à une température élevée, une transformation toute différente, reconnaissable à l'odeur; et même il continue encore à le faire pendant quelque temps lorsque les cultures sont portées à une température plus basse. Chez cette espèce, toutefois, la fonction lumineuse est, elle aussi, très variable et, comme nous l'avons vu, extrêmement sensible au degré de chaleur.

9. Théorie de la fonction lumineuse.

La fonction photogénique, chez les bactéries lumineuses de même que chez d'autres espèces lumineuses dans le monde organique tout entier, est liée à la matière vivante. Jamais on n'a réussi à isoler quelque élément lumineux ou quelque matière photogène pouvant devenir lumineuse en dehors des cellules vivantes[1]). Même l'existence de quelque corps particulier, qui peut-être ne pourrait être enlevé aux cellules vivantes, mais auquel devrait pourtant être rapportés les phénomènes de la luminosité, n'est rendue probable par aucune expérience.

A mon avis, la fonction lumineuse est inhérente aux molécules vivantes, de même que l'est la fonction fermentative. Pour la fermentation alcoolique aussi on a souvent admis, à l'exemple de Liebig, et après que la signification des enzymes eut été plus généralement reconnue, que ce phénomène devait être déterminé par quelque matière spécifique, qui à la vérité ne pouvait être séparée de la cellule de levûre mais qui pourtant dédoublerait le sucre en alcool et en acide carbonique, tout comme la diastase transforme l'amidon en maltose et en dextrine. Si je ne me trompe, M. Hoppe-Seyler est encore aujourd'hui le partisan de cette hypothèse. Mais de plus en plus on en reconnait la stérilité, et depuis les recherches de Pasteur elle commence à être entièrement abandonné.

Pour en revenir à la fonction lumineuse, à différentes reprises on a essayé de prouver l'existence d'une matière photogène spécifique; ordinairement, il a été supposé que l'oxydation de cette matière devait être la cause prochaine du dégagement de lumière. On croyait être fondé à émettre cette supposition d'après les expériences de Macaire[2]) et de Matteucci[3]) sur les organes lumineux de vers luisants. M. Phipson[4]) donna à lidée une forme plus concrète, en imaginant, pour la matière photogène hypothétique du *Raia*, le nom de »noctilucine«; mais ses considérations et observations ne prouvent pas que la matière vivante doive être exclue comme support de la fonction lumineuse.

---

[1]) Le mucus lumineux découvert par Spallanzani, et au moyen duquel certaines méduses de la Méditerranée peuvent rendre phosphorescente l'eau qui les entoure, est du protoplasma vivant, expulsé de cellules des organes lumineux, ouvertes par rupture.

[2]) Gilbert, *Ann. d. Physik*, Bd. 70, p. 265, 1882.

[3]) *Leçons sur les phénomènes des corps vivants.* Ed. franç., p. 145, 1847.

[4]) *Sur la matière phosphorescente de la raie*, dans *Compt. rend.*, T. 51, p. 541, 1860. *Sur la noctilucine*, *Ibid.*, T. 75, p. 547, 1872.

L'existence d'un principe phosphorescent particulier acquit plus de probabilité par les observations de M. Radziszewsky[1]). Celui-ci découvrit le pouvoir lumineux intense développé par la lophine, lorsque ce corps, dissous dans l'alcool amylique, est versé sur l'hydrate de potasse solide. Il se forme alors un liquide qui, en s'oxydant lentement à la température ordinaire, dégage autant de lumière que des cultures modérément brillantes de *Photobacterium indicum* (donc, un peu moins que le *Ph. phosphorescens*), et qui donne un spectre continu de lumière jaune et verte, analogue, quoique non identique, au spectre de *Ph. indicum*[2]). Mais le rapport à la température est ici tout autre. Le *Photobacterium indicum*, cultivé dans la gélatine de poisson peptonisée, cesse subitement de dégager de la lumière quand la température monte à 40° C, pour recommencer dès qu'elle s'abaisse au-dessous de ce point; en d'autres termes, sa luminosité est une action physiologique par excellence. Le pouvoir lumineux de la dissolution de lophine, au contraire, croît d'une manière continue avec la température, certainement jusqu'à 60° d'après mes propres expériences, et à cette température il ne présente aucun indice d'affaiblissement subit, mais produit naturellement l'impression d'un processus chimique ordinaire. M. Radziszewsky a cherché, par beaucoup d'autres exemples, à prouver qu'entre la lumière de la phosphorescence organique et celle de la phosphorescence chimique il y aurait réellement une très grande analogie; il remarque[3]), entre autres, que le protagon dissous dans le toluol donne à 45°, en présence de l'oxygène libre, une forte lumière verte avec la choline, et en citant ce fait il pense évidemment à la lécithine, universellement répandue comme élément du protoplasma vivant. En répétant une grande partie des expériences de M. Radziszewsky, je n'ai pas toujours trouvé les résultats qu'il indique; c'est ainsi, par exemple, que je n'ai pu observer le moindre phénomène lumineux en versant de l'huile d'amandes amères sur de l'hydrate de baryte.

---

[1]) *Ueber das Leuchten des Lophins*, dans *Berichte der deutsch. Chem. Gesellsch.*, Bd. 10, p. 70, 1877.

[2]) M. le professeur F. Ludwig, de Greiz, a eu la bonté de me communiquer ce qui suit sur la lumière de trois espèces de bactéries lumineuses, que je lui avais envoyées: »Das Spectrum des *Photobacteriumlichtes* schwankt übrigens nicht unwesentlich nach dem Substrate. So ist das Licht auf Schweinefleisch im Vergleich zu dem blaugrünen Gelatinelicht *weiss* bei *Ph. phosphorescens*. Der Anfang des Spectrums liegt denn auch bei dem Gelatinelicht nicht bei *D*, sondern etwas bei *Eb*, wie mir auch jetzt ein directer Vergleich bestätigt. *Ph. Fischeri* und *Ph. Pflügeri* einerseits, *Ph. phosphorescens* anderseits konnte ich leicht durch ein hell orange gefärbtes und ein blaues Glas unterscheiden, indem dort das Licht besser durch das orangegefärbte, hier besser durch das blaue Glas ging.«

Le fait, que la couleur de la lumière dépend de la nature de l'aliment, est évidemment en contradiction avec la théorie d'une matière phosphorescente spécifique.

Au reste, le résultat le plus remarquable des nombreuses recherches, disséminées dans quantité de publications, est que le maximum de lumière du spectre lumineux organique se trouve près de la raie *b* du vert ($\lambda = 528{,}20$), avec laquelle, pour le *Pyrophorus noctilucus*, selon M. Dubois, il coïncide exactement. Or, en ce point se trouve précisément aussi la plus grande intensité du spectre solaire (Charpentier, *Compt. rend.*, 1885, p. 182), et c'est pour cette lumière que notre organe visuel a le plus de sensibilité.

[3]) *Ueber die Phosphorescenz der organischen und organisirten Körper*, dans: *Liebig's Annalen*, Bd. 203, p. 305, 1880.

M. Dubois, dans ses études sur la lumière des Pholades[1]), est arrivé à une conclusion semblable à celle de M. Radziszewsky. Il parle d'un élément cristallisable des cellules lumineuses, auquel il donne le nom de luciférine, et d'un enzyme, la luciférase, qui, en contact avec cet élément, déterminerait la production de lumière. Mais, lors de ses belles et nombreuses recherches sur le *Pyrophorus noctilucus*[2]), l'auteur n'a pas été conduit à admettre une hypothèse de ce genre. Dans ce Mémoire, il arrive toutefois à la conclusion que le dégagement de lumière, dans les organes lumineux du *Pyrophorus*, peut avoir lieu sans le contact de l'oxygène libre. Si tel était réellement le cas, je me croirais obligé de renoncer à l'idée que la lumière est liée à l'état vivant du protoplasma. Mais je n'ai pu me convaincre que les expériences décrites par M. Dubois prouvent l'exactitude de son hypothèse peu vraisemblable. Il tire sa conclusion du fait que des organes lumineux desséchés, qui avaient été placés dans un tube de verre où le vide avait été pratiqué, recommencèrent subitement à dégager de la lumière au moment où l'on introduisit dans le tube de l'eau contenant de l'air, et continuèrent cette émission pendant 40 minutes. A mon avis, il était resté ici, dans les organes mêmes, une quantité suffisante d'oxygène. Les bactéries lumineuses présenteraient très certainement le même phénomène[3]), bien qu'il soit facile de démontrer, par d'autres expériences, que l'oxygène libre est une condition nécessaire de la phosphorescence de ces organismes. Mais cet oxygène libre peut se trouver accumulé en certaine quantité dans la substance des bactéries, retenu par un lien lâche, quoique pourtant assez ferme pour ne pas lui permettre de s'échapper dans le vide, et je ne doute pas qu'il ne doive en être de même pour les cellules lumineuses du *Pyrophorus*. Il est assez remarquable que M. de Quatrefages aussi, dans son Mémoire sur le *Noctiluca miliaris*[4]), était arrivé à la conclusion que la fonction lumineuse, due à une combustion lente chez les animaux terrestres, ne l'est pas chez le *Noctiluca*, parce que ses expériences lui avaient appris que le dégagement de lumière se continue longtemps dans l'acide carbonique pur. Mais cela est également le cas pour les bactéries lumineuses et prouve seulement combien est minime la dépense d'oxygène impliquée dans la phosphorescence. M. de Quatrefages paraît d'ailleurs, lui aussi, admettre chez le *Noctiluca* l'existence d'une matière photogénique particulière.

En parcourant les nombreux écrits relatifs à ce sujet, et sur lesquels je ne m'étendrai pas davantage, je n'ai trouvé qu'une seule observation paraissant, au premier abord, en contradiction avec la théorie qui regarde la fonction lumineuse comme liée à l'état vivant du protoplasma. Cette observation est due à M. Owsjannikow[5]). Il dit que les organes photogènes du *Lampyris noctiluca* peuvent, dans l'acide chromique, l'acide osmique et l'alcool étendus, continuer pendant plus

---

[1]) *Comptes rendus*, T. 105, p. 690, 1887.

[2]) *Les Elatérides lumineux*, dans: *Bull. d. la Soc. Zool. de France*, T. 11, p. 1, 1886.

[3]) Le *Photobacterium phosphorescens* peut être conservé à l'état sec pendant environ 1/4 d'heure, mais alors il meurt. Les *Ph. indicum* et *luminosum* meurent aussitôt qu'ils se dessèchent.

[4]) *Mémoire sur la phosphorescence de quelques invertébrés marins*, dans *Ann. d. sc. nat., Zool.* 3e Sér., T. 14, p. 326, § 10, 1850.

[5]) *Zur Kenntniss der Leuchtorgane von Lampyris noctiluca*, dans *Mém de St Pétersbourg*, 7e sér., T. 11, p. 1, 1868

de 70 heures à émettre de la lumière. Mais il ne mentionne pas le degré de dilution de ces liquides, de sorte que, à mon avis, ce fait lui-même ne prouve nullement que les organes en question fussent morts, mais autorise seulement à croire que les forces vitales peuvent être attachées avec une extrême ténacité à la matière vivante des cellules lumineuses.

De tout ce qui précède, on doit finalement conclure, semble-t-il, que pas une seule preuve décisive n'a été donnée à l'appui de l'opinion qui fait dépendre la fonction lumineuse d'un produit de sécrétion particulier ou de quelque composé chimique ordinaire. Il ne reste donc pas d'autre alternative que d'y voir une fonction physiologique spécifique, analogue à la fonction fermentative, au pouvoir réducteur, à la contractilité, à l'irritabilité, et ne pouvant être étudiée avec fruit que si on l'envisage de la sorte.

C'est à la même conclusion qu'était déjà arrivé M. Pflüger, il y a une quinzaine d'années[1]). Ce savant fut le premier qui soumit les bactéries lumineuses à une étude physiologique scientifique, et ce qu'il dit, relativement au point en question, mérite d'être répété; voici ses paroles: »Da somit die Reizbarkeit bewiesen ist, so ist gezeigt, dass die leuchtende Substanz lebende Materie ist. Denn die Reizbarkeit ist die erste und wichtigste Function der lebendigen Materie« (p. 285). Les expériences de M. Pflüger mettent aussi hors de doute, en ce qui concerne les bactéries lumineuses du poisson phosphorescent, la nécessité de l'oxygène libre pour la fonction photogénique, et il est ainsi conduit à cette vue générale: »Der Lebensprocess ist die intramoleculare Wärme höchst zersetzbarer, wesentlich unter Bildung von Kohlensäure und Wasser und amidartigen Körpern sich spaltender, im Zellsubstanz gebildeter Eiweissmolecüle, welche sich fortwährend regeneriren und auch durch Polymerisirung wachsen.«

Sans vouloir souscrire complètement au second de ces deux passages, il me semble pourtant que M. Pflüger, dans les lignes citées, a indiqué avec justesse le rapport entre la respiration, la fonction lumineuse et la vie.

D'après mes observations sur les bactéries lumineuses, je crois, ainsi qu'il a déjà été dit à plusieurs reprises, pouvoir faire un pas de plus en ce qui concerne la définition exacte de la fonction photogénique. Tout ce que nous savons jusqu'ici, à ce sujet, est conforme ou conduit nécessairement à la conclusion que le dégagement de lumière accompagne la transformation des peptones de l'aliment en matière organisée, vivante. Cela a toujours lieu sous l'influence de l'oxygène libre, avec le concours d'une source particulière de carbone pour les bactéries à peptone-carbone, sans un pareil concours pour les bactéries à peptone.

A la question, pourquoi les organismes dont la nutrition est à base de peptone ne sont pas *tous* lumineux, on doit répondre, je crois, que la matière vivante des différentes espèces doit présenter des différences chimiques, parce que de celles-ci précisément dépend la différence des espèces, et qu'il n'est pas à présumer que les états de mouvement des molécules, lors de la transformation des mêmes matières initiales en corps spécifiquement différents, soient identiques. Dans le cas seulement où ces matières prennent part à la constitution d'un organisme photogène, leurs états de mouvement devraient être tels qu'il en résulte un dégagement de lumière.

[1]) *Die Phosphorescenz der lebenden Organismen und ihre Bedeutung für die Principien der Respiration*, dans *Pflüger's Archiv*. Bd. 10. p 275. 1875

Cette interprétation donne lieu à deux difficultés. D'abord, celle-ci: Dans les organes photogènes des Vers luisants et des Pyrophores l'émission de lumière est accompagnée de la mort de cellules ou de protoplasma, avec formation d'une grande quantité de sphéro-cristaux d'urate d'ammoniaque (suivant Kölliker) ou de guanine (suivant R. Dubois). A cela, j'oppose le fait que dans ces organes il s'opère simultanément, dans les cellules lumineuses elles-mêmes ou dans une couche plus extérieure, une régénération de cellules, soit par division, comme chez *Pyrophorus*, où la »couche photogène« et la »couche excrétoire« comptent toutes les deux plusieurs cellules dans leur épaisseur, soit par rénovation du protoplasma actif, comme chez *Lampyris*, où la »couche photogène« et la »couche excrétoire« n'ont chacune que l'épaisseur d'une seule cellule; or, il est très probable qu'ici, tout comme chez les bactéries lumineuses, le dégagement de lumière est lié à l'*accroissement*, plutôt qu'à la *mort*. L'excrétion extrêmement forte, qui accompagne la phosphorescence, prouverait seulement que la constitution chimique des organes photogènes, aux dépens de l'aliment, n'est pas atteinte par la même voie que la constitution analogue (mais naturellement non identique) des autres cellules du corps, dont la formation parait entrainer des excrétions moins intenses[1]). Mais précisément cette différence de voie serait aussi la cause pour laquelle un dégagement de lumière se produit dans l'un des cas, tandis qu'on n'en observe pas dans l'autre.

Une seconde difficulté parait résider dans la »lumière fulgurale« que certains animaux, surtout des animaux marins, peuvent émettre comme moyen de défense, propre à effrayer leurs ennemis. Cette lumière se trouve sous l'influence de stimulants nerveux, et elle dépend assez vraisemblablement de la mise en liberté subite d'une réserve d'oxygène, maintenue par la force nerveuse dans des liens qui peuvent être rompus brusquement. Notre théorie exige la présence de peptones, prêtes à passer tout à coup, conjointement avec l'oxygène, à l'état organisé de protoplasma vivant. Peut-être sera-t-on tenté d'attribuer un semblable phénomène plutôt à la décomposition qu'à la formation de matière vivante. Pourtant, il y a des faits qui, même en ce cas, semblent plaider en faveur de l'opinion ici défendue, par exemple les périodes de repos nécessaires pour rendre possible la répétition de l'acte dont il s'agit. On peut admettre, il est vrai, que ces périodes sont destinées à donner aux produits de sécrétion, engendrés lors de l'émission de la lumière fulgurale, le temps d'être évacués, d'où résulterait la suppression de la cause de fatigue; moi-même, je crois que telle est en partie la signification de cette périodicité, mais seulement en partie, car je regard les temps de repos comme tout aussi indispensables pour rendre possible l'apport des peptones réagissantes. Quoi qu'il en soit, s'est maintenant un fait bien établi que, chez les bactéries lumineuses, le dégagement de lumière est lié à la consommation de peptones, et chez ces organismes toutes les expériences sont beaucoup plus claires et laissent beaucoup moins de place au doute que chez les êtres supérieurs.

Je ne puis toutefois abandonner la question de la fatigue sans avoir rappelé l'intéressante découverte de M. de Quatrefages (*l. c.*, voir p. 56), relative à la lumière

[1]) Que la différence entre les divers organes d'un seul et même organisme, aussi bien que la différence entre les différentes espèces d'organismes, doive dépendre d'une différence dans la composition du protoplasma constituant, c'est ce dont on ne saurait raisonnablement douter

du *Noctiluca miliaris*. Cet infusoire peut émettre deux sortes de lumière, à savoir, de la »lumière physiologique« et de la »lumière pathologique«. La première s'observe en cas de vie normale énergique, la seconde sous l'action d'influence nuisibles qui amèneront bientôt la mort, par exemple dans des petits fragments de la couche tégumentaire avant le dépérissement complet. M. de Quatrefages a trouvé que des animaux en bon état et émettant une forte lumière, examinés à un grossissement de 100 à 120 diamètres, ne sont pas uniformement lumineux sur toute leur surface, mais en quelque sorte parsemés de petits champs lumineux, qui peuvent être comparés chacun à un amas d'étoiles, vu qu'ils sont composés d'un très grand nombre de points excessivement fins. Lorsque, au contraire, ces animaux étaient à l'état pathologique, leur couche cutanée tout entière brillait d'un éclat uniforme. M. de Quatrefages ne mentionne pas si les taches lumineuses de l'état normal occupent des places fixes; je présume que tel ne sera pas le cas. Il nous apprend bien que chaque tache correspond à une trabécule protoplasmatique, qui, venant de l'intérieur, s'applique contre la couche cutanée; mais il laisse intacte la question de savoir si la situation de ces trabécules est constante, et je doute qu'elle le soit. En tout cas, la poutrelle protoplasmatique a une influence déterminée et est évidemment le moyen d'empêcher la production de lumière pathologique. Cette influence se laisse tout aussi bien expliquer en admettant que les trabécules évacuent les produits de sécrétion formés lors de l'exercice de la fonction photogénique, que par l'hypothèse qu'elles amènent la matière nécessaire au dégagement lumineux. En cas de lumière pathologique, le lien qui retenait localement fixé l'oxygène libre doit avoir été rompu, et les peptones disponibles, avec ou sans le concours d'amides ou d'autres combinaisons du carbone, peuvent se transformer en matière vivante, aussi longtemps que la réserve n'en est pas épuisée, c'est-à-dire, jusqu'au moment de la mort.

Chez les bactéries lumineuses indiennes j'ai observé, dans les derniers temps, des phénomènes qui indiquent, tout comme chez le *Noctiluca*, l'existence de lumière »physiologique« et de lumière »pathologique«; mais je ne veux pas, en ce moment, entrer dans le détail de ces observations.

10. La lumière des bactéries possède-t-elle quelque signification biologique?

La question, si dans la lutte pour l'existence les bactéries lumineuses tirent profit de leur faculté photogénique, doit, à ce que je crois, recevoir une réponse négative. S'il se trouvait que des animaux marins supérieurs fussent phosphorescents par symbiose avec des bactéries lumineuses, le jugement devrait être autre; mais cela n'a encore été démontré dans aucun cas. M. le professeur Dubois a bien communiqué avoir isolé de Pholades lumineuses des bactéries lumineuses, le *Bacillus Pholas*[1]), mais plus tard il a déclaré être néanmoins convaincu de l'existence, chez ces animaux, d'un organe photogène spécial. En outre, d'après les microphotographies du *Bacillus Pholas* qu'il a eu la bonté de m'envoyer, je tiens cet organisme pour identique avec mon *Photobacterium luminosum*. M. le professeur Hoffmann, de

[1]) *Comptes rendus*, T. 107, p. 502. 1888.

Leiden, a également eu l'obligeance de me céder une grande quantité d'Actinies et de Pholades vivantes, qui, toutefois, me parvinrent à l'état non lumineux. L'examen microscopique et bactériologique des tissus m'apprit que ceux-ci ne contenaient pas de bactéries. A la vérité, le mucus du siphon de *Pholas dactylus* et de *Ph. carinatus* était riche en bactéries [1]), semblables ou identiques à l'état non lumineux du *Photobacterium luminosum;* mais, des cellules de ce que je crus devoir considérer comme l'organe photogène, il ne sortit pas de bactéries.

M. le Dr. Wijsman, ayant très adroitement retiré, de l'eau de mer phosphorescente de la plage de Scheveningen, un Dinoflagellé fortement lumineux, qui fut déterminé comme *Ptychodiscus Noctiluca* Stein, l'a broyé dans de la gélatine de poisson peptonisée. Aucune bactérie lumineuse n'en est provenue. Moi-même, j'ai recueilli à Scheveningen deux espèces lumineuses de *Sertularia* et une d'*Obelaria*, et, après les avoir bien lavées dans l'eau de mer, puis divisées dans de l'eau de mer stérilisée, j'ai versé celle-ci sur de la gélatine de poisson: cette opération aussi n'a donné que quelques colonies de bactéries non lumineuses. En examinant au microscope le cordon médullaire central de ces animaux, je trouvai des cellules allongées spéciales, qu'à l'origine je pris pour des bactéries; mais maintenant je ne crois plus que telle soit leur nature. Au reste, je sens parfaitement que tous ces résultats négatifs prouvent peu de chose pour l'opinion que des microbes ne peuvent *pas* être la cause du phénomène de la phosphorescence des animaux; peut-être, en effet, — ainsi pourrait-on raisonner, — les microbes perdent-ils dans le corps des animaux leur faculté de se multiplier franchement en dehors de ce milieu [2]). Mais, quand même cela serait vrai, il n'en résulterait pas la réfutation de l'opinion que je cherche à faire prévaloir. En effet, si les bactéries, une fois intruses, sont déchues du pouvoir de vivre en dehors de l'animal, la possibilité cesse que les microbes de la mer et du rivage proviennent de ces animaux phosphorescents. Songer à une action sélective, exercée par les animaux lumineux sur les bactéries lumineuses, me paraîtrait donc absurde.

Le mucus lumineux dont il a été question plus haut (p. 270), et que beaucoup d'animaux marins, notamment quelques Annélides et Méduses phophorescentes, répandent dans l'eau à l'approche d'un danger, consiste en cellules urticantes et en protoplasma vivant expulsé des cellules lumineuses. Spallanzani [3]) en dit déjà qu'il irrite comme l'ortie, et si fortement que la sensation de brûlure sur la langue persiste tout un jour; il a vu aussi que ce mucus peut rester lumineux quelque

---

[1]) Et en spermatozoïdes.

[2]) Ce raisonnement est fondé sur l'observation suivante. Les Zoochlorelles (*Zoochlorella conductrix* Brandt) de l'*Hydra viridis* sont sans nul doute des algues ayant pénétré du dehors dans le corps de ces animaux, et appartenant au genre nouveau *Chlorella*, dont je possède, de puis environ un an, une espèce en cultures sur gélatine, qui croît assez promptement. Les Zoochlorelles elles-mêmes, ne peuvent être cultivées sur gélatine et dans des liquides qu'avec la plus grande diffuculté, parce qu'elles cessent temporairement de se diviser quand elles ne sont plus en contact avec le protoplasma vivant des cellules animales. J'ai trouvé la même chose pour les Zoochlorelles du *Paramaecium Bursaria* et du *Stentor polymorphus*. Le *Zoochlorella parasitica* Brandt, du *Spongia fluviatilis*, ne se laissait même jusqu'ici point du tout élever en culture libre.

[3]) *Viaggi alle due Sicilie e in alcune parte dell' Apennino*, Chap. 27. Je cite d'après Ehrenberg, *Das Leuchten des Meeres*, dans *Abh. Berl. Akad.*, 17 avril 1834, p. 44.

temps dans l'eau de mer, l'urine ou le lait, mais qu'ensuite il s'éteint, — évidemment parce que la vie s'en retire. Dans ce cas non plus, on ne peut donc penser à des bactéries lumineuses.

Je ne dois pas omettre, toutefois, de citer encore une observation qui m'est propre, et qui s'accorde avec celle faite par M. Dubois sur le *Pholas.*

Lorsque, au mois d'août 1888, j'eus isolé du sable marin le *Photobacterium luminosum*, je remarquai que certaines méduses phosphorescentes, rejetées en abondance sur la plage pendant les chaudes soirées d'été, et que je rapporte au *Phialidium variabile*, laissaient, après avoir été broyées sur le sable, un mucus brillant d'une vive lumière, dont l'intensité répondait entièrement à celle de mes cultures de *Ph. luminosum*. J'emportai alors, après les avoir soigneusement lavés dans l'eau de mer, quelques-uns de ces animaux, pour les examiner de la manière ci-dessus décrite. De l'un d'eux est provenue une abondante culture pure de *Ph. luminosum*. On ne saurait nier que l'animal a été en contact avec l'eau de mer et avec le sable de mer, qui tous les deux contiennent le *Ph. luminosum*; mais il en est de même des autres animaux lumineux, ci-dessus nommés. Provisoirement, je me borne à conclure de cette observation que la substance du corps de la méduse doit être un excellent aliment pour cette bactérie lumineuse, fait qui certes n'est pas dépourvu d'intérêt; toutefois, l'extrait ordinaire de poisson, convenablement préparé, possède cette même qualité, de sorte qu'il ne semble pas qu'on doive y attacher quelque signification biologique particulière.

Reste encore une autre question. Les animaux marins *morts*, qui deviennent phosphorescents sur le bord de la mer, seraient-ils peut-être un moyen de dissémination pour les bactéries lumineuses?

Sans hésiter, on peut répondre négativement. Les courants de la mer seront certes bien suffisants pour assurer la dispersion: le long de la mer du Nord, la vague et le sable de l'estran sont, — tel était du moins le cas en 1888, — chargés d'une véritable culture de ces bactéries lumineuses. Il ne saurait être question, non plus, de dissémination par les oiseaux: les bactéries lumineuses ne résistent pas à la dessiccation, ce qui exclut la dispersion par transport d'objets lumineux; et encore beaucoup moins supportent-elles l'action de sucs digestifs acides, d'où résulte aussi l'impossibilité de la dispersion par les excréments des oiseaux.

Personne ne peut dire quelles découvertes l'avenir nous réserve en ce qui concerne la vie dans les abimes de l'océan; c'est seulement dans les derniers temps que l'on a commencé à faire quelques recherches à ce sujet, et il en ressort que la profonde obscurité qui règne dans ces régions est éclaircie par les rayons émanant d'innombrables animaux lumineux, dont la biologie est inconnue. Mais, provisoirement, nous n'avons aucune indication permettant de faire intervenir ici les microbes photogènes, de sorte que tout le monde conviendra, je pense, qu'il n'existe pas de motif pour voir dans la lumière des bactéries un phénomène utile à ces organismes. Cette lumière est évidemment la conséquence accidentelle de transformations chimiques, et tout aussi étrangère à la possibilité biologique de la perpétuation des bactéries, que la lumière de la lophine est étrangère à la possibilité chimique de l'existence de cette matière. Cette conclusion est encore corroborée par le fait que le *Photobacterium luminosum* est beaucoup plus facile à obtenir et à conserver à l'état non lumineux que comme bactérie photogène, et que c'est

aussi à cet etat qu'il existe le plus souvent dans les conditions naturelles. Un développement très actif à basse température (15° C) est seul accompagné de phénomènes lumineux intenses; la vie ralentie par insuffisance de nourriture, et l'accroissement très actif à des températures plus élevées, vont au contraire de concert avec une obscurité complète, et c'est sans doute à ce dernier état que nos bactéries lumineuses se trouveront ordinairement sur les bords de la mer. Par exception, seulement, l'eau de mer offrira les conditions nutritives nécessaires pour la multiplication rapide avec dégagement lumineux énergique. Ce raissonement ne s'applique pas aussi bien, il est vrai, aux *Photobacterium Pflügeri* et *phosphorescens*, dont le pouvoir lumineux persiste, même quand la vie y est beaucoup moins active; pourtant, lorsque l'aliment carboné est tout à fait insuffisant, sans que pour cela mort doive s'ensuivre, ce pouvoir disparaît complètement, de sorte que je me figure ces bactéries, elles aussi, passant la plus grande partie de l'année, dans la mer et sur la plage, à l'état obscur.

II. Applications à l'étude des enzymes.

a) *Etude des enzymes diastasiques.*

Au commencement de ce Mémoire, j'ai noté que le *Ph. phosphorescens* réagit sur la maltose, tandis que le *Ph. Pflügeri* ne le fait pas. Cette propriété peut être utilisée, dune manière simple, pour la solution de certaines questions physiologiques difficiles à résoudre par la voie chimique ordinaire, à savoir, pour décider si, dans des actions diastasiques, c'est la glucose ou la maltose qui prend naissance comme produit de la transformation. Le mode d'exécution et la valeur d'une semblable expérience ressortiront de ce qui suit[1]).

On prend de l'eau de mer mélangée avec 8 pour cent de gélatine 1 pour cent de peptone et 1/4 pour cent d'empois, bien bouillie, de fécule de pomme de terre; à une première portion de ce melange on ajoute un excès de *Ph. phosphorescens*, à une seconde, un excès de *Ph. Pflügeri*. Après la coagulation, on obtient des plaques de gélatine uniformément lumineuses, dans lesquelles la fécule reste intacte, le *Ph. phosphorescens* et le *Ph. Pflügeri* ne pouvant utiliser cette matière comme aliment, ni y déterminer quelque transformation, vu qu'ils ne sécrètent pas d'enzymes exerçant des actions diastasiques. Place-t-on toutefois, à la surface des deux plaques de gélatine, différentes préparations contenant de la diastase, celle-ci se diffuse de tout côté dans la gélatine et convertit la fécule en sucre et dextrine. Voici ce qu'on observe alors.

Quand on emploie, comme préparation diastasique, la maltose et la dextrinase de malt, la diastase de pancréas[2]), la ptyaline[3]), la néphrozymase[4]), la dias-

---

[1]) Comp. Wijsman *l. c.* (voir p. 244).

[2]) Obtenue en mettant dans l'alcool concentré du tissu pancréatique vivant. Il se forme alors une masse blanche, facile à réduire en poudre, et qui est exempte de trypsine, de sorte que sous son influence la gélatine ne fond pas.

[3]) Obtenue en agitant de la salive avec du chloroforme. Les cellules et le mucus se déposent avec une partie du chloroforme. Le liquide surnageant est une dissolution de ptyaline dans l'eau chloroformée, et peut être conservé indéfiniment dans un flacon bouché.

[4]) Obtenue en précipitant l'urine par l'alcool.

tase d'amylobacter[1]). la diastase du péricarpe de *Cytisus Laburnum*, du sarrasin germé, des graines germées du *Mirabilis Jalapa*, ou enfin la diastase de maïs, on voit bientôt apparaître, sur le terrain à *Ph. phosphorescens*, des taches fortement lumineuses, auxquelles succèdent des champs d'accroissement. Sur le terrain à *Ph. Pflügeri* les matières diffusées ne donnent pas lieu à de vrais champs de lumière et d'accroissement, mais on observe seulement, aux endroits où les préparations diastasiques touchent directement la gélatine, un faible phénomène d'accroissement et un fort effet lumineux local, dont l'explication a été donnée antérieurement (p. 30).

De ces expériences il résulte que les diastases ci-dessus nommées ne forment pas de glucose par leur action sur la fécule. Il me paraît douteux, toutefois, que dans tous ces cas la maltose soit la seule matière photogène produite; je crois plutôt que dans des cas déterminés il se forme encore un autre sucre, qui est photogène avec le *Ph. phosphorescens* sans l'être avec le *Ph. Pflügeri*, et qui occupe peut-être une place intermédiaire entre la maltose et la maltodextrine, dépourvue du pouvoir photogénique.

b) Etude des enzymes inversifs.

Une seconde série d'applications, auxquelles les bactéries lumineuses peuvent se prêter, est relative à l'examen des produits d'inversion que le sucre fournit sous l'influence des enzymes inversifs, sécrétés par des levûres ou par d'autres microbes. Un exemple éclaircira ma pensée.

Au mélange eau de mer-gélatine-peptone on ajoute un excès de *Ph. phosphorescens*. Peu de temps après la coagulation, la couche de gélatine cesse d'émettre de la lumière, par suite du défaut de combinaisons carbonées assimilables. On y laisse alors se former des champs de diffusion de sucre de canne, de raffinose et de sucre de lait, corps dont aucun n'est décomposé par les bactéries lumineuses et ne donne par conséquent lieu à des phénomènes lumineux locaux. Trace-t-on toutefois dans ces champs de diffusion des lignes de microbes inversifs, ou dépose-t-on à leur surface de petites quantités de l'invertine sécrétée par ces microbes, les sucres susdits sont transformés en ces endroits en sucre inverti, qui, comme l'expérience l'apprend, est un excellent aliment photogène pour les bactéries lumineuses ordinaires. Dans le cas en question, où l'on dispose de champs de diffusion formés par la raffinose, le sucre de lait et le sucre de canne, on peut faire l'expérience suivante, qui n'est pas dépourvue d'intérêt.

Le *Saccharomyces Kefyr*, la levûre contenue dans les grains de kéfir, est en état de faire fermenter le sucre de lait, ce que ne font ni la levûre de bière, *Sacch. cerevisiae*, ni la levûre de vin, *Sacch. ellipsoideus*. Le sucre de canne et la raffinose, toutefois, sont invertis par chacune de ces trois levûres, et par conséquent rendus propres à la fermentation alcoolique. Or, en traçant des lignes de *Saccharomyces cerevisiae*, de *Sacch. Kefyr* et de *Sacch. ellipsoideus* à travers les champs de diffusion des trois sucres sur le terrain à *Ph. phosphorescens*, on peut au bout de quelques jours faire les observations suivantes, qui donnent l'explication des différences, ci-dessus mentionnées, en aptitude à déterminer l'inversion des sucres.

---

[1]) Obtenue en précipitant par l'alcool le produit d'une fermentation normale d'alcool butylique, déterminée par le *Bacillus Amylobacter*.

Le *Saccharomyces Kefyr* se trouve secreter un enzyme, la lactase, par lequel comme il a ete dit, les trois sucres en question sont invertis, c'est à dire il se forme donc des sucres pouvant servir à l'accroissement du *Ph. phosphorescens*. Il en resulte qu'autour des lignes de cette levûre, dans les champs de diffusion de chacun des trois sucres, on voit apparaître des champs de lumiere et d'accroissement de *Ph. phosphorescens*. Je dois toutefois faire remarquer que ces experiences avec le sucre de lait sont tres subtiles et que leurs resultats peuvent dependre de circonstances accessoires, dont jusqu'ici je ne me suis pas encore bien rendu compte[1].

Quant au *Sacch. cerevisiae*, et au *Sacch. ellipsoideus*, ils produisent un enzyme moins actif, l'invertine[2], qui est bien capable d'invertir le sucre de canne et la raffinose, mais non d'invertir le sucre de lait[3]. Cela a pour consequence qu'autour des lignes de ces deux levûres, dans le champ du sucre de lait, le *Ph. phosphorescens* n'eprouve rien de particulier. Il en est autrement dans les champs de diffusion du sucre de canne et de la raffinose: ces sucres sont transformes par l'invertine, et fournissent du sucre inverti pouvant donner lieu tant à l'accroissement qu'à la luminosite du *Ph. phosphorescens*. Ces dernières observations à l'egard du sucre de canne et du raffinose sont parfaitement simples et decisives.

L'invertine, la lactase et en general tous les enzymes sont precipites de leurs dissolutions par l'alcool ou par d'autres agents, qui ne nous donnent nullement la certitude d'obtenir des corps purs, ou, à mieux dire, qui donnent la certitude, que toutes sortes d'autres matières, notamment des dextrines, des gommes et des peptones, sont precipitees en même temps que l'enzyme. Pour cette raison, dans les experiences où des enzymes doivent être decelés par des effets d'accroissement ou de lumiere, il convient de faire agir les matières renfermant les enzymes non seulement sur une couche de gelatine qui, outre les microbes servant de reactif, contienne la substance destinee à subir la transformation enzymatique, mais aussi sur un terrain semblable depourvu de la substance à transformer. Par la comparaison des resultats obtenus dans les deux cas, on peut alors ordinairement estimer la part qui revient aux produits de l'action enzymatique. Là encore, toutefois, il y a une chance d'erreur, car il est possible, — et lors de l'examen des preparations diastasiques le cas se présente reellement, — que dans l'enzyme brut il se trouve un element qui ne devienne actif qu'en présence d'une petite quantite du produit de conversion forme par l'enzyme, et qui echappe donc à l'observation lorsque ce produit de conversion fait defaut. Ainsi, dans la diastase précipitee, qu'elle provienne du malt, de la salive, de l'urine ou du pancreas il y

[1] Dans quelques expériences, en effet, j'ai obtenu des effets de lumière et d'accroissement avec le sucre de lait, sous l'influence du *Saccharomyces ellipsoideus*. Je me suis donc demandé s'il serait possible que parmi les sucres de lait du commerce il se trouve des isomeres, qui réagiraient différemment à l'action de l'invertine. Mais, jusqu'ici, cette question est restée sans solution. La possibilité se laisse concevoir aussi que, dans ce que je détermine comme *S. ellipsoideus*, il se rencontre différentes races de levûres.

[2] L'invertine de la levûre de biere et celle de la levûre de vin paraissent être identiques.

[3] Aussi le lait peut-il facilement être mis en fermentation par la levûre de kéfir, mais non par la levûre de biere, ni par la levûre de la grande industrie, qui est composée de la même espece que la levûre de vin, à savoir, du *Sacch. ellipsoideus*.

a une matière, probablement une peptone qui non seulement peut déterminer avec la maltose un phénomène d'accroissement et de lumière chez le *Ph. phosphorescens*, comme le font, réunies, la peptone du commerce et la maltose, mais qui peut même être assimilée par le *Ph. phosphorescens* conjointement avec la maltodextrine, laquelle devient alors substance photogène. Au reste, les champs de diffusion du corps en question, dans les terrains de gélatine sont si petits que, en y mettant l'attention nécessaire, on peut facilement se préserver de toute confusion avec d'autres matières. Son influence et sa signification deviennent naturellement beaucoup plus grandes dans les cultures liquides.

c Étude des enzymes tryptiques.

La trypsine est l'enzyme albuminique du pancréas. Beaucoup d'espèces de bactéries sécrètent une enzyme identique ou très analogue à cette trypsine pancréatique. De ce nombre sont, comme on l'a vu, nos bactéries lumineuses à peptone. A côté de la question de l'identité ou de la diversité de ces enzymes, laquelle doit être résolue par l'examen des produits qui peuvent naître de leur action sur *la même* matière protéinique, il s'en présente une autre, non moins importante, relative à la nature des produits formés par le même enzyme agissant sur des corps albuminoïdes différents. Les bactéries à peptone en général, et les bactéries lumineuses à peptone en particulier, deviendront peut-être un moyen de résoudre ces questions. Pour cela, toutefois, il faudra des connaissances plus exactes que celles acquises jusqu'ici par rapport aux produits de dédoublement des matières albuminoïdes sous l'influence des enzymes, et à l'action de chacun de ces produits sur les fonctions physiologiques des bactéries à peptone.

Selon toute probabilité, la trypsine sécrétée par les bactéries lumineuses est identique à celle du pancréas. Du moins, cela paraît résulter de l'analogie des transformations que l'une et l'autre font subir à l'albumine, à la gélatine et à la caséine, en tant que, de la parité du pouvoir d'accroissement et de phosphorescence chez les bactéries lumineuses indiennes, on peut conclure à l'égalité de nature des matières actives dans ces processus. En ce qui concerne toutefois les enzymes albuminiques sécrétés par le groupe de bacilles du foin[1], leur identité avec la trypsine du pancréas ne me paraît pas démontrée.

Les expériences peuvent être faites de la manière suivante.

Dans un petit matras se trouve de l'eau de mer contenant du phosphate et 3 pour cent de gélatine, le tout stérilisé par ébullition, puis infecté de *Photobacterium indicum*. Après 24 heures de séjour dans un thermostat, à la température de 30° on observe un peu d'accroissement et de dégagement de lumière ; mais l'un et l'autre restent faibles, de sorte que la trypsine sécrétée par le *Ph. indicum* ne forme, aux dépens de la gélatine, que très peu de matières pouvant donner lieu au dégagement de lumière. La perte du pouvoir de coagulation de la gélatine prouve cependant que la sécrétion de trypsine a commencé chez les bactéries. Au bout d'un nouvel inter-

---

[1]) Sous le nom de »bacilles du foin« j'entends ici tous les bacilles qui liquéfient la gélatine et dont les spores peuvent temporairement supporter la température de l'ébullition. Ils appartiennent à différentes espèces.

valle d'une trentaine d'heures, l'intensité lumineuse peut être devenue très grande, parfois aussi grande que possible. Mais alors encore, et même après un temps plus long, l'accroissement reste faible. L'augmentation d'intensité lumineuse démontre toutefois qu'un aliment photogène doit s'être formé aux dépens de la gélatine.

Si maintenant on ajoute dans de semblables matras de culture, avant que les bactéries n'aient complètement peptonisé la gélatine, un très petite quantité de trypsine[1], et qu'on abandonne le tout pendant 24 heures à une température de 30° C, l'intensité lumineuse se trouve, dans la plupart des matras, élevée au maximum, tandis que, ici encore, l'accroissement demeure très faible. La marche des phénomènes conduit seulement à conclure qu'ils ont été accélérés, de sorte qu'on ne peut songer qu'à une différence de concentration entre la trypsine du pancréas et celle des bactéries, mais non à quelque différence qualitative. J'ai obtenu le même résultat en employant comme aliment de nos bactéries lumineuses, au lieu de gélatine, du blanc d'œuf coagulé par la cuisson dans l'eau de mer. Dans un pareil liquide aussi, le dégagement de lumière est d'abord faible, ensuite plus fort, et peut être notablement accru par l'addition de pancréas, c'est-à-dire, par l'augmentation de la proportion de trypsine. Soit avec la trypsine du pancréas, soit avec celle des bactéries, l'optimum de température pour la transformation, ainsi que le degré d'alcalinité le plus favorable, parait être le même.

Que dans notre expérience la trypsine pancréatique produit l'aliment photogène et plastique aux dépens de la gélatine, et ne contient pas elle-même certains éléments pouvant remplir ces fontions, c'est ce qui résulte du fait qu'en dissolvant dans l'eau de mer une quantité de trypsine égale à celle employée dans les expériences ci-dessus décrites, et en infectant cette dissolution, préalablement stérilisée, avec le *Ph. indicum*, on n'a pas obtenu trace de lumière ou d'accroissement.

[1]) On peut se procurer des préparations très actives en précipitant par l'alcool des extraits faits avec la poudre de pancréas du commerce. Moyennant quelques soins, ces précipités sont faciles à obtenir à l'état stérile.

L. Beissner's Untersuchungen bezüglich der Retinisporafrage.

Botanische Zeitung, Leipzig, 48. Jahrgang, 1890, S. 517—524, 533—541.

Vor vielen Jahren machte der berühmte Dendrologe C. Koch die Mittheilung, dass *Thuya ericoides (Retinispora ericoides* Hort.), ungefähr 1852 zu Frankfurt durch einen Steckling aus *Thuya occidentalis* erhalten worden und unter dem betrügerischen Namen *Tuya juniperoides*, als sogenannte neue Acquisition aus Japan, in den Handel gebracht war.

Diese Thatsache hat anfangs nicht in dem Maasse die Aufmerksamkeit auf sich gezogen, welche dadurch beansprucht wird, und man dürfte bei der Beurtheilung derselben nur an eine gewöhnliche Knospenvariation gedacht haben. Erst durch die beharrlichen Untersuchungen und Beobachtungen des Poppelsdorfer Garteninspectors L. Beissner ist diese wichtige Sache zu grösserer Klarheit gebracht, obschon in wissenschaftlicher Hinsicht noch gar Manches dunkel bleibt.

Versuchen wir zuerst Beissner's Angaben hier kurz zusammen zu stellen.

Das Hauptresultat ist wie folgt.

Thuya occidentalis, Biota orientalis, Chamaecyparis pisifera und *Chamaecyparis sphaeroidea* kommen in den Baumschulen und Gärten, jede für sich, unter drei verschiedenen Formen vor, welche als Hauptform, Uebergangsform und Jugendform bezeichnet werden können. Führen wir die drei Formen unter den gegenwärtig dafür acceptirten Namen nebeneinander an, so ergiebt sich folgende Uebersicht.

Hauptform	Uebergangsform	Jugendform
Thuya occidentalis	*Th. occ. Ellwangeriana*	*Th. occ. ericoides*
Biota orientalis	*B. or. meldensis*	*B. or. decussata*
Chamaecyparis pisifera	*Ch. pisif. plumosa*	*Ch. pisif. squarrosa*
„ *sphaeroidea*	*Ch. sph. Andelyensis*	*Ch. sph. ericoides*

Die in dieser Tabelle aufgeführten Jugendformen gingen in der Horticultur, vor dem Jahre 1887, gewöhnlich unter den Namen *Retinispora* und *Chamaecyparis*, die Uebergangsformen entweder unter diesen Gattungsnamen oder unter den Hauptnamen. Uebrigens giebt es eine verwickelte Synonymie, welche Beissner wiederholt übersichtlich zusammengestellt hat [1]), und welche uns hier natürlich nicht weiter interessirt.

[1]) Und zwar in seinem Handbuche der Coniferen-Benennung, Leipzig 1887, in Jäger und Beissner, Die Ziergehölze, 3. Aufl., S. 402, 1889, und in Berichten der Deutsch. Botan. Gesellsch., Jahrg. 1889, Bd. 6, S. LXXXIII

Sehen wir aber, auf welche Weise die Jugend- und die Uebergangsformen aus den Hauptformen entstehen.

Hier muss eine bei den Coniferen ziemlich allgemein verbreitete Eigenschaft, welche übrigens auch in gewissen anderen Familien vorkommt, so bei den Banksiaceen, den Leguminosen, den Araliaceen und vielleicht auch bei den Myrtaceen und anderswo [1]), in Erinnerung gebracht werden. Die Eigenschaft besteht darin, dass aus einem Seitenzweige, als Steckling verwendet, durchaus nicht bei jeder Art ein normaler Baum mit Hauptachse und Seitenzweigen entsteht, sondern sozusagen ein frutescentes Gewächs, ohne eine bestimmte Achse, welche den Seitensprossungen beim Wachsthum vorauseilt.

Auf Seitenzweigen von *Taxus baccata* entstehen auf diese Weise vom Boden an verzweigte Sträucher mit mehreren, nebeneinander vertical aufwachsenden, gleichwerthigen Achsen, was mir aus eigener Erfahrung bekannt ist. Aus einem *Thuya* erhält man aus den Seitenzweigen die »flachen« Bäume, welche aus parallelen Laubschichten bestehen, die nur von einer Seite betrachtet decorativ sind, und in der dazu senkrechten Richtung angesehen den »Tag« durchlassen. Ja, die Stabilität der Seitenachsen kann soweit gehen, dass gewisse Coniferen, welche ihre Spitze verloren haben, sich niemals wieder erholen können. So sagt Beissner z. B.[2]): » . . . überdies theilt *Cryptomeria japonica* mit manchen anderen Coniferen die Eigenthümlichkeit, dass sie, wenn einmal die Spitze verloren, ein Krüppel bleibt«. In anderen Fällen können jedoch bei Entfernung der Spitze Seitenzweige diese ersetzen, und die Baumzüchter machen davon Gebrauch [3]), um neue Hauptachsen zu bekommen, wenn es sich um die Reproduction handelt. Gewöhnlich haben sie dafür gesonderte Exemplare, welche als Mutterbäume verwendet werden in der Weise, dass nach Entfernung des Gipfeltriebes zum Zwecke des Pfropfens, einige Seitenzweige durch geeignetes Schneiden zu neuen Gipfeltrieben herangezogen werden, welche dann wieder für spätere Verwendung geeignet sind.

Inzwischen giebt es gewisse Seitensprossungen, welche sofort der Hauptachse ähnlich auswachsen können. Die Gartenbücher bezeichnen als solche, erstens, diejenigen Sprosse, welche hart an der Hauptachse entspringen aus ruhenden Augen an altem Holze, und, zweitens, die Callusknospen, welche adventiv aus dem unterirdischen Callus an gewissen Coniferenstecklingen heraussprossen, so z. B. bei den Araucarien. Uebrigens sind diese Verhältnisse noch in hohem Grade einer wissenschaftlich botanischen Untersuchung bedürftig.

Kehren wir nach dieser Bezeichnung des allgemeinen Sachverhaltes, wozu das Verhalten von *Retinispora* nur als extremer Fall gehört, zu unserer Frage selbst zurück.

Hier sind es die allerersten Seitenzweige, welche an den Keimpflanzen entstehen, entweder in den Achseln der Samenlappen oder der nächsthöheren Primordialblätter,

[1]) Nach Regel (Gartenflora 1882, S. 152) beschrieb Lindley die blühende Form von *Malonetia asiatica* unter dem Namen *Rhynchospermum jasminoides*, und der nämliche Autor bringt die wohlbekannte Zusammengehörigkeit von *Hedera arborea* und *Hedera Helix* in Erinnerung und weist auf die Jugendform von *Evonymus japonica*. Er hätte auch *Eucalyptus globulus* nennen können.

[2]) *Cryptomeria japonica* Don var. *elegans*, Gartenzeitung 1884, S. 543.

[3]) Nach mündlicher Mittheilung.

welche durch erbliche morphologische Eigenschaften von der Mutterpflanze abweichen und bei der Verwendung als Stecklinge Pflanzen von einem ganz anderen Habitus erzeugen, welche so sehr von der Norm abweichen können, dass die Botaniker und Gärtner in Bezug auf deren Verwandtschaft vollständig irregeführt worden sind [1]. Bei denjenigen Cupressineen, welche später anliegend schuppenförmige Blätter tragen, sind die Keimpflanzen mit abstehend linienförmigen Nadeln besetzt und diese Eigenschaft verliert nur die Hauptachse, während die Seitenzweige ihren Character endlos (wenigstens nach der bis heute vorliegenden Erfahrung) beibehalten und als solche reproducirt werden können.

Hören wir was Beissner in seiner ersten Mittheilung über *Thuya occidentalis* wörtlich sagt [2]: »Zum Ueberfluss kann ein Jeder von Samlingen der *Th. occidentalis* die Zweigchen mit nur linienförmigen Blättern, dann solche, wo beide Formen [3] vertreten sind, abschneiden und das Experiment [4] nachmachen. Auch ich that dieses, und erzog genau dieselben Pflanzen«, das heisst, er erhielt *Th. occ. ericoides* und *Th. occ. Ellwangeriana.*

In seiner zweiten Mittheilung [5] über die Entstehung von *Biota orientalis decussata* und *B. or. meldensis* aus *Biota orientalis* heisst es: »Um *Retinispora squarrosa* Hort. aus Stecklingen von *Biota orientalis* wieder zu erziehen, muss man genau darauf achten, nur die kleinen Zweigchen mit kreuzständigen Blättern, welche wir dicht über den Samenlappen finden, zu wählen. Die Mehrzahl dieser nur wenig vorgeschrittenen Zweigchen wird stets *Biota meldensis* [6] ergeben, und tritt der schuppenförmige Stand der Blätter etwas deutlicher hervor, so gehen die Stecklinge bald in die ausgebildete Pflanze, nämlich *Biota orientalis* über. Man hat zugleich den Uebergang von einer Form zur anderen deutlich vor Augen.«

Es sind deshalb auch hier, wie oben gesagt, die ersten Verzweigungen der Keimpflanzen, welche ganz besonders geeignet sind ihren embryonalen Character während einer augenscheinlich endlosen Generationsreihe, bei der Vermehrung durch Stecklingszucht zu bewahren.

Ehe wir weiter gehen, scheint es nicht überflüssig, einen so ganz auffallenden Sachverhalt durch die Erfahrungen eines anderen verdienten Gärtners erhärten zu können. Ich führe deshalb das folgende Citat, welches dem Aufsatze von W. Hochstetter [7] entlehnt ist, ebenfalls wörtlich an.

»Die sogenannten *Retinispora*-Arten der Gärten sind alle ohne Ausnahme fixirte Primordialformen von jungen Samenpflanzen der Gattungen *Chamaecyparis, Biota* und *Thuya.* Das Kunststück (wenn ich mich so ausdrücken darf) besteht darin,

---

[1]) So wurde die Jugendform von *Chamaecyparis sphaeroidea* von verschiedenen Autoren und Gärtnern zu *Chamaecyparis, Retinispora, Cupressus, Juniperus, Frenela* und *Widdringtonia* gebracht.

[2]) Beobachtungen über echte und falsche *Chamaecyparis (Retinispora).* Regel's Gartenflora 1879, S. 110.

[3]) Also Zweige mit linienförmigen abstehenden und mit schuppenförmigen anliegenden Blättern bilden.

[4]) Beissner bezieht sich hier auf die oben angeführte Mittheilung Koch's.

[5]) Ueber Formveränderung an Coniferensämlingen. Regel's Gartenflora 1879, S. 172.

[6]) Das heisst also die Uebergangsform.

[7]) Die sogenannten *Retinispora*-Arten der Gärten. Regel's Gartenflora 1880, S. 302.

Stecklinge von solchen jugendlichen, mit linienförmigen Nadeln versehenen Samenpflanzen zu entnehmen (keine Gipfel- sondern Seitentriebe), die sehr leicht sich bewurzeln, dann in der Primordialform verharren und zu dicht gedrungenen Büschen heranwachsen. Sämmtliche Retinisporen des Tübinger Gartens haben noch nie fructificirt, werden schon nach 5 bis 8 Jahren unansehnlich und gehen dann allmählich ein; sie sind also nur im jugendlichen Alter decorativ schön und müssen nach einem kürzeren oder längeren Zeitraum (je nach dem Standort) durch Stecklinge verjüngt werden. Sehr richtig scheint mir die Ansicht Beissner's, dass die Japanesischen Gärtner dieses Kunststück zuerst ausgeführt haben und diese zwergigen Pflanzen unter den verschiedensten Namen nach Europa gewandert sind. Die meisten sogenannten Retinisporen sind denn auch wirklich aus Japan eingeführte Gartenformen«.

Obschon zu einem von den vorhergehenden Beispielen etwas abweichenden Sachverhalt gehörig, lohnt es sich doch hier noch Folgendes in Erinnerung zu bringen. Der wohl bekannte Gärtner E. Carrière[1]) sagt in Bezug auf das Oculiren von Rosen: »Nimmt man die Augen von einem sehr langen Zweige, wie solche sich beinahe immer vorfinden, und welche nicht blühbar sind, so wird man davon nur eine blüthenarme Pflanze erhalten, welche, wenn sie zu einer sogenannten »remontirenden« Sorte gehört, selbst diese Eigenschaft verlieren kann. Nimmt man dagegen von der nämlichen Pflanze diejenigen Knospen zum Oculiren, welche auf kurzen blüthenführenden Zweigen vorkommen, so wird man im Allgemeinen blüthenreichere Pflanzen erhalten, deren Zweige sich beim Blühen weniger verlängern«. Derselbe Autor schliesst daran die Bemerkung: »Was wir hier von den Rosen gesagt haben, lässt sich vielleicht auch von allen anderen Pflanzen behaupten«.

Folgendes mit dem vorigen innerlich verwandtes Beispiel ward mir mündlich von Baumzüchtern mitgetheilt. Wenn man beim Pfropfen von Aepfeln und Birnen, die sogenannten »Wasserschosse« gebraucht, so entstehen daraus Bäume, welche entweder niemals blühen und fructificiren, oder dieses erst thun nach einem geeigneten Wurzelschnitt. Der letztere Fall ist offenbar wohl etwas verschieden von den früheren, denn die so äusserst kräftig wachsenden, gewöhnlich stark positiv geotropischen Wasserschosse sind eben dadurch der Hauptachse mehr ähnlich und gleichen nichts destoweniger unseren, der Hauptachse erblich unähnlichen, seitlichen Coniferen-Sprossungen.

Nach diesen den Phanerogamen entlehnten Beispielen kann ich nicht umhin, die besonders von Brefeld betonte, constante Natur der hefe- und oidiumartigen Sprossungen vieler höheren Pilze, z. B. der Exobasidien und Ustilagineen und mancher Basidiomyceten hervorzuheben. Ich konnte Brefeld's Angaben vielfach bestätigen. Dieser Autor geht selbst so weit, die Möglichkeit anzuerkennen, dass die Bacterien nichts anderes als Conidiengenerationen höherer Pilze sind.

Kehren wir zu Beissner's Erfahrungen zurück.

Die Production der Jugendformen ist nicht bei allen Arten leicht auszuführen, denn es giebt viel Verschiedenheit in der Dauer desjenigen Zustandes der Keimpflanzen, während welcher Zweige mit erblichen Jugendeigenschaften zu erhalten sind. Merkwürdigerweise scheinen in dieser Beziehung nicht nur Artenunterschiede zu existiren, sondern in der Aussaat einer bestimmten Art werden Individuen angetrof-

[1]) Production et fixation des variétés. 1865. p 60.

fen, deren jugendlicher Character länger andauert, wie bei den übrigen Exemplaren. Allein Beissner's Ansicht, dass aus solchen Samlingen mit langerdauernden Jugendcharacteren die Gartenretinisporen entstanden sein dürften, scheint mir nicht genügend begründet. Interessant finde ich aber Beissner's Angabe, dass er bei *Cupressus Lawsonii* nur sehr schwierig Zweige mit linienförmigen Blättern an den Keimlingen auffinden konnte, dass ihm, solche zu finden, jedoch schliesslich gelang, und dass daraus eine Form mit abstehenden, innen weissen Nadeln aufgewachsen ist, deren Constanz jedoch noch nicht zu beurtheilen war.

Unser Autor bemerkt nun weiter, dass in solchen Fällen, wo die directe Erzeugung der Jugendformen Schwierigkeiten veranlasst, ein wenig Selection vermittelst der Uebergangsformen aushelfen kann. »So wird man [1]) sich leichter *Retinispora squarrosa* Hort. von *Biota meldensis* abnehmen können, als von *Biota orientalis*, und ich möchte auch glauben, dass die Erziehung auf diesem Wege geschah. Wie ich schon früher mittheilte, nahm ich *Retinispora ericoides* Zucc. von *Chamaecyparis Andelyensis* und *Chamaecyparis squarrosa (Veitchi)* Sieb und Zucc. von *Ch. pisifera plumosa* ab« [2]).

Mir scheinen diese Angaben ausserordentlich wichtig; eine Bestätigung derselben ist aber erwünscht. Ich habe *Thuya occidentalis Ellwangeriana* genau angesehen und war in der Lage einen umfangreichen Stecklingsversuch mit den bodenständigen *Ericoides*-Zweigen davon bei Herrn Baumschulbesitzer Koker zu Renkum zu durchmustern. Die Pflanzen waren noch sehr jung, im zweiten Jahre, und ziemlich verschieden, allein alle hatten den Typus der *Th. occ. Ellwangeriana* beibehalten und hatten also sowohl *Ericoides*-, wie echte *Occidentalis*-Zweige. Auch *Chamaecyparis sphaeroidea Andelyensis* konnte ich zu Boskoop genau untersuchen und hier war nicht einmal eine Localisation der *Ericoides*-Zweige zu finden, sondern die Jugendform kam an allen Zweigen bis in der Spitze des Strauches ganz zerstreut vor; ja der nämliche Zweig konnte beim weiteren Wachsthum zwei oder dreimal seine morphologische Natur abändern. Natürlich will ich mit diesen Bemerkungen nichts gegen Beissner's Angaben behaupten, sondern nur auf die sehr eigenthümlichen, hierbei obwaltenden Verhältnisse hinweisen.

Oben haben wir aus Hochstetter's Angaben gesehen, dass die Jugendformen meistens steril sind, und sich viel leichter bewurzeln wie die Hauptformen. Ersteres trifft jedoch nicht ausnahmslos zu, denn in günstiger Lage, z. B. in Südeuropa, können die Retinisporen einzelne Früchte mit keimkräftigen Samen bringen. Aus solchen Samen entstehen die Hauptformen; ob die Ansicht Beissner's, dass eben solche Sämlinge sehr lange Jugendeigenschaften bewahren, genügend durch die Erfahrung begründet ist, vermag ich aus seinen, mir bisher bekannt gewordenen Angaben nicht sicher zu schliessen.

Dass die Retinisporenstecklinge leichter Wurzeln treiben, wie die Hauptformen, wird von verschiedenen Seiten bestätigt und stimmt auch mit allgemeineren Erfahrungen bei allerlei anderen Pflanzen. Auch diese Angelegenheit ist jedoch einer genaueren botanischen Prüfung sehr bedürftig, wie überhaupt die ganze Frage der Wurzelbildung aus den verschiedenen Organen derselben Pflanze.

---

[1]) Gartenflora 1879. S. 173

[2]) Hier hat Beissner ein paar Fehler in den Namen gemacht, welche ich verbessert habe.

Die obige Darstellung der Beissner'schen Untersuchung eröffnet eine ganze Reihe von Fragen. Erstens diese: Sind auch bei anderen Coniferen wie bei den vier oben genannten Jugend- und Uebergangsformen bekannt? Mit mehr oder weniger Wahrscheinlichkeit werden noch gewisse ähnliche Fälle von Beissner und Hochstetter angegeben. Nach ersterem Autor soll *Cryptomeria elegans* Jugendform von *Cryptomeria japonica* sein. In Niederland ist *Cryptomeria elegans*, wie ich von Baumzüchtern vernehme, immer vollständig blüthenlos und steril[1]. Nicht also in Italien. Beissner sagt[2], er habe aus solchen Samen Keimlinge erhalten identisch mit denjenigen von *Cryptomeria japonica*. Die Keimung war aber schwieriger und die Constanz noch unsicher.

Nach demselben Autor soll *Cupressus Bregeoni*, welcher nur linienförmige abstehende Blätter trägt, wahrscheinlich Jugendform zu *Cupressus sempervirens* sein. Ferner dürfte *Glyptostrobus heterophyllus* (= *Taxodium sinense* Forb. = *Taxodium japonicum* Brongn.) die zwergige Jugendform zu *Taxodium distichum* darstellen.

Bei Hochstetter finde ich noch die folgende Angabe, welche ich hier vollständig aufnehmen will[3]:

»Ehe ich diesen Artikel über die fälschlich bezeichneten *Retinispora*-Arten schliesse, will ich noch einige frappante Beispiele anführen, wie man durch Stecklingszucht junger Samenpflanzen verschiedener Nadelhölzer ganz fremdartige Pflanzenformen erziehen kann. Stecklinge von *Pinus canariensis*- und *P. Pinea*-Sämlingen im zweiten oder dritten Jahre abgenommen, wachsen leicht an, verharren in der Primordialform und bilden hübsche grüne Büsche mit spiralig einzeln gestellten Nadeln von unvergleichlicher Schönheit. Sämlingspflanzen von *Cupressus funebris* und anderen Arten durch Stecklingszucht fixirt, wachsen zu sehr hübschen Büschen von hellgrüner Belaubung mit gegenständigen 1—2 cm langen Nadeln heran und werden vielfach fälschlich als *Frenela*-Arten verbreitet. *Cryptomeria elegans* ist gar nichts anders als die fixirte Sämlingsform von *Cryptomeria japonica*.«

Ueberblickt man alle diese Angaben, so empfindet man, dass hier etwas Wichtiges in Bezug auf die Variationserscheinung, vielleicht auch auf die Variationsursachen bei den Coniferen gefunden werden kann[4]. Uebrigens ist es nothwendig, dass dafür ein Beobachtungsmaterial, reicher wie das vorliegende, zur Verfügung steht.

In methodischer Hinsicht wird sich empfehlen, zunächst durch Versuche festzustellen, welche Folgen ein beschnittener Stamm erfahren auf die Entwicklung der Primordialknospen an den Keimpflanzen hat, wodurch die noch offene Frage erledigt werden wird, in wieweit die Verbindung mit der Hauptwurzel den morphologischen Entwicklungsgang beherrscht.

Ferner fragt sich, was beim Pfropfen geschehen wird? Hierbei wird man den Hauptspross des Keimlings auf Zweigen verschiedener Ordnung der Unterlage, so-

1) Ich vermuthe aber, dass wenn im Laufe der Jahre Sprosse von *Cryptomeria japonica* [illegible]

2) [illegible] Beissner, Zierbäume, 2. Aufl., 1889, S. [illegible]

3) l. c. [illegible]

4) Ich finde hierbei [illegible] ist die zuerst von Darwin aufgestellte, später von [illegible] Grundgesetz [illegible] nach welchem die Ontogenie eine kurze Recapitulation der Phylogenie ist.

wie die Samenpflanzen [illegible] der [illegible] [illegible] bei [illegible] Unter-
lage [illegible] haben.

Nach den [illegible] [illegible] [illegible] [illegible], wie [illegible] die
Hauptachse der Keimpflanze [illegible] [illegible] [illegible] [illegible].

Es dürfte ferner interessant sein, zu [illegible], dass in dieser [illegible] der [illegible]
Juniperus-Arten einer näheren [illegible] zu unterziehen und weiter die Jugend-
formen zu [illegible] [illegible] *Pinus* [illegible] [illegible] [illegible] [illegible] sind. In
Bezug auf *Pinus* [illegible] glaube ich, dass die [illegible] [illegible] [illegible] die
die »Rosenkranzwege« dieses Baumes [illegible] [illegible] [illegible] [illegible]
wie Hochstetters [illegible] Jugendformen [illegible] *Pinus* [illegible] und [illegible]
[illegible] spiralig gestellte Nadeln [illegible] [illegible] [illegible] [illegible].

Inzwischen werde ich diese [illegible] weiter zu verfolgen [illegible] [illegible]
darauf später zurückzukommen zu können. Eine so umfangreiche und [illegible] Un-
tersuchung kann jedoch durch einen einzelnen Botaniker nicht leicht zum Abschluss
gebracht werden und eben darum habe ich Ursache gefunden über Beissners Be-
obachtungen an dieser Stelle zu referiren in der Hoffnung, dass denselben eine ge-
bührende Theilnahme auch seitens anderer Leser dieser Zeitschrift zu Theil werde.

Am Ende der Darstellung von Beissners Wahrnehmungen angekommen,
wünsche ich noch den Eindruck wiederzugeben, welchen dieselben auf mich gemacht
haben. Ganz kurz ist er dieser: Jede besondere Sprossform einer Pflanze hat das Be-
streben bei der Reproduction Aehnliches zu erzeugen. Wurzeln [illegible] [illegible]-
weise Wurzeln, Inflorescenzzweige neue Inflorescenzzweige u. s. w. Bei verschiedenen
Pflanzen ist diese Permanenz der Sprosscharaktere sehr verschieden, aber bis zu
einem gewissen Grade ist dieselbe bei jeder Pflanze zu bemerken.

Die Natur hat davon in grossem Maassstabe Verwendung gemacht bei der Er-
zeugung der Diöcisten und Heterostylen, welche bekanntlich bei Stecklingscultur
sexuell constant sind.

Da nun eine Pflanze wie *Hedera arborea* nichts anderes ist als die [illegible]
Sprossgeneration von *Hedera Helix* und sich genau in dieser Art [illegible] [illegible]
Retrospecten zu ihren Mutterpflanzen, so taucht die Frage auf, ob man nicht [illegible]
lich von gewissen monöcischen Pflanzen [illegible] durch Stecklinge [illegible] [illegible]
züchten können. Dieses wäre gewiss nicht [illegible] [illegible] [illegible] [illegible] bei
denjenigen Arten, wo die beiden Blüthenformen stark [illegible] [illegible] wie
bei Erle und Haselnuss, aber bei der Eiche, [illegible] [illegible] [illegible] [illegible]
grosser Entfernung [illegible] [illegible] [illegible] scheint mir ein [illegible]
Versuch nicht gänzlich aussichtslos zu sein. Für die Erzeugung eines »männlichen
Eichenbaumes« müssten [illegible] Knospen [illegible] [illegible] [illegible] [illegible] ge-
eignetes Reproductionsverfahren[1] [illegible] [illegible] [illegible] mit [illegible] männlichen
Blüthenkätzchen in den Achseln [illegible] [illegible] [illegible] [illegible] wel-
chen die Knospenschuppen als Niederblätter [illegible] [illegible] [illegible] [illegible]
blühbaren alten Zweigen [illegible]. Ein [illegible] Eichenbaum würde da-
gegen vielleicht entstehen [illegible] [illegible] [illegible] [illegible] Knospe, welche

[1] Wie [illegible] [illegible] [illegible] [illegible] [illegible] Knospen-
[illegible] kleinen Bäumchen [illegible] [illegible] [illegible] [illegible].

sich an einer weiblichen Blüthenspindel vorfindet, wie man solche besonders an den Spitzen der weiblichen Amentenährchen nicht selten vorfindet.

Ich wähle hier die Eiche als Beispiel, allerlei andere monöcische Pflanzen würden sich ebenfalls oder selbst mit noch mehr Aussicht auf das Gelingen des Versuches empfehlen. Besonders diejenigen Arten, welche ihre Sexualtrennung nicht ausschliesslich in die Reproductionszone aufzeigen, sondern mehr oder weniger Zuneigung besitzen, diese Spaltung schon in der noch völlig vegetativen Region auszuführen (wie z. B. *Zea Mays*), dürften hierbei noch besonders in Betracht kommen. Adventiv- und Callusknospen sollten verworfen und nur gewöhnliche Achsel- oder »Meristemknospen« für die Ausführung der Versuche gewählt werden.

Ohne irgend einen bestimmten Zweifel darüber aussprechen zu wollen, dass die Serehkrankheit des Zuckerrohres, welche noch stets die Javanische Zuckerindustrie mit Untergang bedroht, wirklich wie wir aus Indien von gewissen berufenen Seiten vernehmen, durch Bacterien entsteht, so will ich doch, bei der Zurückhaltung, welche andere urtheilsfähige Beobachter dieser Ansicht entgegenbringen, die folgende Möglichkeit, welche, so weit mir bekannt, noch von niemand hervorgehoben wurde, der Aufmerksamkeit der Züchter empfehlen.

Bei den Gramineen haben wir zwar bisher keinen einzigen Grund, um die Seitensprossungen nicht als gleichwertig mit der Hauptachse zu betrachten. Allein die Coniferen mahnen uns in dieser Beziehung zur Vorsicht. Wir stehen hier vor einem völlig unverstandenen Probleme. Ein schlechtes Exemplar eines *Taxus baccata*, von einem unkundigen Baumzüchter gekauft, ist in jeder Hinsicht habituell zu vergleichen mit einer serehkranken Zuckerrohrpflanze [1]).

Nun frage ich, ohne irgend etwas präjudiciren zu wollen, ob hier auch eine tiefere wie bloss habituelle Aehnlichkeit vorliegen kann. Ist es auch möglich, dass die Seitenknospen des Zuckerrohres doch in einer uns bisher unbekannt gebliebenen Eigenschaft von der Hauptknospe verschieden sind und nach lange andauernder Reproduction des Zuckerrohres vermittelst derselben ihre »Seitenknospennatur« auf die Nachkommen erblich übertragen? Oder, anders ausgedrückt, dass dadurch der normale Gegensatz zwischen Haupt- und Nebenachsen in die Stecklingspflanzen im Begriff zum Verschwinden gebracht ist?

Zwar vernehme ich, dass auf den Versuchsstationen schon Samenpflanzen gewonnen sind [2]), und dass diese auf dieselbe Weise der Serehkrankheit anheimfallen, wie die durch Stecklingszucht erhaltenen. Allein wir wissen über die eigentlichen Ursachen der Polymorphie und der Variabilität bisher nichts, und können durchaus nicht beurtheilen, inwiefern ein solcher Character, welcher im Falle der Serehkrankheit nicht constant wie bei den Coniferen, sondern essentiell fluctuirend sein müsste, sich bei der sexuellen Fortpflanzung verhalten würde. Auch weiss ich nichts bezüglich der Abstammung der verwendeten Samen. Sind dieselben durch Selbstbefruchtung oder durch Kreuzung erhalten? Weiss man, ob sie unter ihre Ahnen vielleicht Sereh-

[1]) Im Jahre 1882 konnte ich eine solche Pflanze, noch im Boden wurzelnd aus Java übersandt, zwar in trockenem Zustande untersuchen.

[2]) Bekanntlich hat *Saccharum officinarum* seine sexuelle Reproductionskraft beinahe gänzlich verloren (also den Retinisporen ähnlich) und nur sehr selten entstehen Blüthen und Samen

pflanzen zählen? Wie sind die daraus herkünftigen Stecklinge gewonnen, aus Seitenzweigen von erster, zweiter, dritter Ordnung etc., oder wie anders?[1])

Mit einem Worte, ich wünsche bei der Rathlosigkeit, mit welcher man der Krankheit noch immer gegenüber zu stehen scheint, die *Retinispora*-Frage als möglicherweise nützlich für das Studium derselben zu bezeichnen. Man achte desshalb auf Beeinflussung des als Steckling verwendeten Sprosses durch die Mutterachse, und auf die Ordnungszahl der Verzweigung, wozu der Steckling gehört.

Nachschrift.

Seitdem vorgehender Aufsatz an die Redaction eingesandt wurde, habe ich die Frage weiter verfolgt.

Ich besuchte einige Baumschulen, worunter die ausgedehnten Culturen von Coniferensämlingen des Herrn A. M. C. Jongkindt Coninck, Baumzüchter zu Dedemsvaart bei Zwolle. Herr Coninck beschäftigt sich mit der Herstellung eines systematisch geordneten Pinetum nach Beissner's System. Er hat mich in jeder Beziehung mit Nachrichten unterstützt. Herrn Forstbaulehrer Tutein Nolthenius zu Wageningen bin ich zu Dank verpflichtet für einjährige Coniferensämlinge. Ferner kaufte ich die Haupt-, Uebergangs- und Jugendformen von *Thuya occidentalis, Chamaecyparis sphaeroidea* und *Ch. pisifera* und untersuchte zahlreiche Uebergangsformen in den Baumschulen. Dann hatten mehrere Practiker die Freundlichkeit, mir die Gelegenheit zu geben, höchst interessante Topfculturen von *Pinus Pinea, Frenela australis, Pinus canariensis*[2]) und *Chamaecyparis sphaeroidea Andelyensis* mit ausserordentlich ausgeprägtem Jugendcharacter kennen zu lernen. Alle diese Fälle entsprechen dem von Ratzeburg abgebildeten sechsjährigen Topfexemplare von *Pinus Pinea,* welches in 1859 ausgesäet, erst in 1861 die ersten Doppelnadeln erzeugte[3]). Schliesslich erhielt ich von verschiedenen Botanikern, besonders von Professor Hugo de Vries, werthvolle Mittheilungen.

Die dadurch gewonnenen Resultate will ich in den folgenden Sätzen kurz zusammenfassen.

1. Die Dauer des jugendlichen Habitus der ein- und zweijährigen Keimpflanzen von *Chamaecyparis Lawsoniana, Thuya occidentalis* und *Biota orientalis* kann bei verschiedenen Individuen der nämlichen Aussaat sehr verschieden sein. Diese Aussage beruht auf eigener Untersuchung tausender Sämlinge jener Art bei Herrn Jongkindt Coninck.

2. Die Ursache dieser Verschiedenheit hängt mit einer besseren oder schlechteren Ernährung direct zusammen, und zwar derweise, dass alle Umstände, welche die Ernährung beeinträchtigen, die Erhaltung der Jugendcharactere begünstigen.

---

[1]) Auch nach dem Lesen der inzwischen erschienenen Arbeit von Benecke, Suikerriet uit zaad, Semarang 1889, kann ich meine Fragen nicht als beantwortet betrachten.

[2]) Wie wir oben gesehen, hat Hochstetter eben von dieser Art eine Jugendform gezüchtet, ohne genau anzugeben, auf welche Weise er dabei verfahren ist. Dürfte das ebenfalls nur eine Topfcultur gewesen sein? Ich glaube es.

[3]) Die Waldverderbniss. Bd. I, S. 275, Taf. I, Fig. 1 Berlin 1866. Ich verdanke den Hinweis auf diese Figur der Güte von Dr. Ritzema Bos.

3. Die verschiedenartigsten Pflanzenkrankheiten, wie z. B. Frostschaden, Insectenfrass, pflanzliche Parasiten, zufällige Wurzelverwundungen geben desshalb bei den Sämlingsconiferen Veranlassung zur Entstehung von Zweigen mit Jugendhabitus aus Knospen, welche schon soweit oberhalb der Cotyledonen vorkommen, dass daraus bei gesunden Pflanzen normale Zweige hervorgegangen sein würden. Sowohl die Verwundung des Holzcylinders wie die der Rinde der Hauptwurzel sind in dieser Beziehung wirksam.

4. Die Erneuerungssprosse, welche bei der Uebergangsform von *Chamaecyparis sphaeroidea Andelyensis* in der Nachbarschaft der Schnittwunde, entstehen, besitzen Jugendcharactere und können desshalb an willkürlichen Stellen, für soweit diese Stellen gut beschattet und der Hauptachse genähert sind, hervorgerufen werden.

Dagegen findet man die bevorzugte Stelle für die Entstehung der relativ seltenen Hauptform-Sprosse bei der Uebergangsform *Chamaecyparis pisifera plumosa* eben am Gipfel des Hauptsprosses. Hier sei noch bemerkt, dass letztere Uebergangsform im Habitus sich sozusagen wie ein Bastard zwischen der zugehörigen Haupt- und Jugendform benimmt, während die anderen Uebergangsformen sich mehr einem Verhalten, wie wir das bei den heterophyllen Juniperen finden, annähern.

5. Sehr entschieden ist der Einfluss unzureichender Ernährung auf die Ausbildung der Jugendformen bei Topfpflanzen *(Pinus Pinea, P. canariensis, Frenela australis, Chamaecyparis sphaeroidea Andelyensis)*. Dieser Einfluss geht so weit, dass man nach allem Anscheine durch geeignete Topfcultur ohne Stecklingsversuche überhaupt, zu permanenten Jugendformen von *Pinus, Chamaecyparis, Frenela, Thuya, Biota* und wahrscheinlich auch von den übrigen Coniferen wird kommen können.

6. Die Japaner dürften ihre Retinisporen ursprünglich auf die in 5 bezeichnete Weise durch Topfcultur und nicht durch Stecklingsversuche erhalten haben. Später müssten die Pflanzen dann, durch Stecklinge vermehrt, auch bei der reichlichsten Ernährung ihren Jugendcharacter beibehalten haben.

Jedenfalls hat man in der Topfcultur ein ausgezeichnetes Mittel, um Pflanzen zu gewinnen, wovon man mit grösster Leichtigkeit Stecklinge mit reinem Jugendcharacter schneiden kann.

Ergiebt sich, wie kaum anders zu erwarten, dass die Constanz solcher Sprossungen bei vegetativer Vermehrung die nämliche ist, wie bei den Zweigen aus den Achseln der Primordialblätter der Keimlinge, so würde es unnöthig sein, für die Erzeugung der permanenten Jugend- und Uebergangsformen die schwierigen Versuche, wie Beissner dieselben beschreibt, mit den Seitenzweigen der normalen einjährigen Keimlinge auszuführen.

Der Verlust der Fähigkeit zur Erzeugung der Hauptform, wie derselbe bei *Retinispora* und ähnlichen Jugendpflanzen vorliegt, muss als ein durch äussere Bedingungen erworbener Character betrachtet werden, welcher, bei vegetativer Vermehrung, erbliche Constanz besitzt. Ob diese Constanz sich auch bei Aussaat zeigen wird, lässt sich zwar noch nicht ausreichend beurtheilen, das dürfte aber, nach allem Anscheine, ebenfalls zutreffen.

Culturversuche mit Zoochlorellen, Lichenengonidien und anderen niederen Algen.

Botanische Zeitung, Leipzig, 48. Jahrgang, 1890, S. 725—739, 741—754, 757—768, 781—785 — Verscheen gedeeltelijk en zonder plaat onder den titel: Cultuurproeven met zoöchlorellen, lichenengonidiën en andere lagere wieren« in Verslagen en Mededeelingen der Kon. Akademie van Wetenschappen, Amsterdam, Afd. Natuurkunde, 3e Reeks, Deel VIII, 1891, blz. 30—33.

I.

Das Isoliren niederer Algen durch die Gelatinemethode.

Am 10. April 1889 bemerkte ich, dass das Wasser eines seichten Teiches in der Nähe von Delft durch mikroskopische Algen intensiv grün gefärbt war. Die grüne Farbe war beinahe ebenso stark wie diejenige des Grases am Ufer; durch eine Schicht von einem Centimeter konnte Druckschrift nicht mehr gelesen werden. Der Teich war im Herbst 1888 der Heerd einer heftigen Fäulnis unter starker Gasentwicklung und Schwefeleisenbildung gewesen. Anfang Juni verschwand die grüne Farbe, so dass am Ende dieses Monates nichts mehr davon zu bemerken war.

In Bechergläsern im Laboratorium bewahrt, verdarb das Wasser bald infolge der Vermehrung reducirender Organismen; die grünen Zellen fielen zu Boden und waren nach 14 Tagen todt [1]).

Die grünen Zellen waren so klein, dass das Wasser beim Filtriren durch doppeltes, schwedisches Filtrirpapier beinahe eben so grün durchlief, als wie es aufgegossen war.

Seit langer Zeit hatte ich gewünscht, Reinculturen von niederen Algen zu besitzen, zur Ausführung gewisser Versuche über die Sauerstoffbildung im Chlorophyll. Das grüne Wasser eröffnete augenscheinlich eine vielversprechende Gelegenheit, diesen Zweck zu erreichen. Ich täuschte mich darin nicht. Bald hatte ich zwei Arten daraus isolirt und Erfahrung gewonnen, durch welche ich auch die Culturbedingungen anderer Algen von anderen Standorten beurtheilen konnte.

Die mikroskopische Prüfung des Wassers lehrte, dass verschiedene Algenarten sich an der Erzeugung der grünen Farbe betheiligten. Auffallend war dabei das vollständige Fehlen von Schwärmern, ja selbst von Schwärmsporen erzeugenden Algen überhaupt, sowie von Cyanophyceen.

---

[1]) Der Teich hat im April 1890 nichts Besonderes gezeigt. Dagegen war ein Graben in dessen Nachbarschaft, worin, während des Winters 1889—1890, viel mit organischen Substanzen verunreinigtes Wasser entleert war, in diesem Jahre ebenfalls intensiv grün, durch eine ähnliche jedoch nicht identische Vegetation. Schon Ende Mai starben die grünen Zellen im Graben ab und es gelang nicht, dieselben zu isolhren; der mikroskopischen Prüfung zufolge gehörten beinahe alle zu einer einzigen Art, *Chlorella infusionum*, welche der unten zu besprechenden, *Chlorella vulgaris* nahe verwandt ist.

Weitaus am häufigsten war eine Grünalge, welche ich für identisch halte mit der von Rabenhorst als *Chlorococcum protogenitum* bezeichneten Form, obschon, wie bemerkt, die Schwärmsporen dabei gänzlich fehlen, was mich zwingt, für diese Alge einen besonderen Namen, *Chlorella vulgaris*, zu wählen (vergl. S. 730, Note 1). Uebrigens ist der Name ziemlich gleichgiltig, denn ich werde unten die Algen derart beschreiben, dass jeder dieselben leicht erkennen kann.

Die zweite Stelle der Häufigkeit des Vorkommens nach, erfüllte eine *Scenedesmus*art, nämlich *Sc. acutus* Meyen, welche ich ebenso, wie die vorige, isolirt habe. Ich hielt dieselbe, so lange ich unter sehr günstigen Ernährungsbedingungen cultivirte, wobei nur freie unverbundene Zellen entstehen, für ein neues *Raphidium*, und gab demselben den Namen *R. naviculare* [1]). Als ich aber später die zu Familien vereinigten Zellen kennen lernte, welche in nährstoffarmen Wasserculturen entstehen, war Täuschung unmöglich.

Weniger allgemein, obschon durchaus nicht selten, waren *Raphidium fasciculatum* Nägeli, *Scenedesmus obtusus* Meyen, *Sc. caudatus* Kützing, und noch einige andere *Scenedesmus*arten, welche ich nicht sicher bestimmen konnte [2]).

Um zu unterscheiden, ob ich würde erwarten können, dass diese Algen sich durch die Gelatinemethode von einander und von den überaus zahlreichen Bacterien trennen lassen, führte ich den folgenden vorläufigen Versuch aus.

Ein wenig des grünen Wassers wurde mit dem dreifachen Volumen einer 20% Gelatinelösung in Grabenwasser gemischt, zu einer dünnen Schicht ausgegossen und erstarrt, wodurch eine sehr leicht grünlich gefärbte Platte entstand. Letztere wurde in einem Fenster ins volle Licht gestellt, und täglich, bezüglich der Farbenintensität, beurtheilt. Am fünften Tage sah ich, dass die Intensität der grünen Farbe vermehrt war und das Mikroskop lehrte, dass die Algenzellen sich zu kleinen Colonien von zwei bis acht Zellen getheilt hatten. Zwar begann die Gelatineplatte infolge des Bacterienwachsthums zu verflüssigen, allein die Möglichkeit der Trennung war erwiesen, und diese wurde folgendermaassen ausgeführt.

Grabenwasser wurde, ohne Zusatz irgend einer anderen Nährsubstanz, mit 10% Gelatine gekocht und auf die gewöhnliche Weise mit einem Tröpfchen des grünen Wassers vermischt, ausgegossen und erstarrt. Ein solcher Boden ist so äusserst arm an assimilirbarem Stickstoff und an Phosphaten, dass alle, die Gelatine nicht verflüssigenden Bacterien, sich darin nur sehr unvollkommen vermehren. Hat man nur eine Spur des grünen Wassers gebraucht, so kann die Zahl der verflüssigenden Bacterien so gering werden, um in weiten Strecken der Platte zu fehlen, sodass diese

---

[1]) Over Gelatineculturen van ééncellige wieren. Vortrag gehalten im »Provinciaal Utrechtsch Genootschap« im Juni 1889.

[2]) Diese Beobachtung veranlasst mich, hier die Namen von denjenigen »Infusionsthierchen« anzugeben, welche nach Ehrenberg (Die Infusionsthierchen als vollkommene Organismen, S. 122, Berlin 1838) die Grünfärbung stagnirender Gewässer veranlassen können. Es sind: *Monas bicolor, Uvella Bodo, Glenomorum tingens, Phacolomonas Pulvisculus, Cryptomonas glauca, Cryptoglena conica, Pandorina Morum, Gonium pectorale, Chlamidomonas Pulvisculus, Volvox Globator, Astasia sanguinea* (jung), *Euglena sanguinea* (jung), *E. viridis, Chlorogonium euchlorum* und *Ophrydium versatile*. Alle sind beweglich und wohl desshalb von Ehrenberg als »Infusionsthierchen« bezeichnet. Die von mir genannten Algen sind Ehrenberg sicher bekannt gewesen, allein, wohl nur wegen deren Unbeweglichkeit, von ihm nicht in sein System aufgenommen.

während mehrerer Wochen fest bleiben kann, und erst, durch die Ausdehnung entfernter Colonien nach längerer Zeit verschmilzt. In diesen festen Stellen muss man mit der Loupe die intensiv grünen Colonien aufsuchen. Das Glück wollte, dass der Zusammenhang in diesen Colonien nur gering war, so dass die Vertheilung derselben in neue Nährgelatine und damit die vollständige Trennung von den Bacterien leicht gelang. Zwei Arten, welche für weitere Versuche gedient haben, wurden auf die beschriebene Weise isolirt, nämlich *Scenedesmus acutus* und *Chlorella vulgaris*.

Ich will zu deren gesonderten Besprechung übergehen.

II.

Beschreibung von *Scenedesmus acutus*.

Diese Art mit ihren beiderseits zugespitzten Zellen, welche zu Familien (*b*, Fig. 1) von gewöhnlich vier bis sechzehn Stück vereinigt sind, ist wohl jedem Mikroskopiker bekannt. Der Chlorophyllkörper lässt nur, — und das nicht einmal immer, — die Spitzen und einen seitlichen Mittelfleck ungefärbt; derselbe schliesst ein deutliches Pyrenoid und einige kleine stark lichtbrechende Tröpfchen oder Bläschen ein.

Jod färbt das durch das Chlorophyll gebildete feste Kohlenhydrat violettbraun, sozusagen die Mittelfarbe zwischen derjenigen von Jodamylum und Jodparamylum.

Die Zelltheilung findet statt durch Wände, welche, bezüglich der Längsachse der Zelle schief gestellt sind. Irgend ein anderer Fortpflanzungsprozess als durch Zelltheilung findet nicht statt. Schwärmsporen fehlen vollständig, wie ich, auf Grund der während eines Jahres fortgesetzten succesiven Culturen, in den verschiedensten Nährmedien, behaupten kann.

Beim Wachsthum in Wasser mit nur wenig organischen Substanzen bleiben die Zellen zu kleinen Familien vereinigt, welche in einer ebenen Fläche liegen, obschon die aufeinander folgenden Theilwände sich nach den drei Richtungen des Raumes rechtwinkelig schneiden, wobei jede acht- oder sechzehnzellige Familie das Product einer einzelnen Mutterzelle ist, deren Zellwand schon frühzeitig abgestreift wurde und deren Theilproducte sich in zwei Etagen anreihen. Diese Etagen entsprechen dann den beiden Hemisphären der als Kugel gedachten Mutterzelle, wenn diese die erste Theilung erfahren hat.

Die wichtigsten Eigenschaften unserer Art, welche durch die Gelatineculturen entdeckt wurden, sind diese: 1. *Scenedesmus acutus* kann die Nährgelatine verflüssigen (*e*, Fig. 1). 2. *Sc. acutus* ernährt sich mit organischer Nahrung. 3. Uebersteigt der Gehalt der Culturflüssigkeit an organischen Nährstoffen ein gewisses Maass, so verlieren die Zellen ihre spitzen Enden, sie werden rund oder elliptisch (*d*, Fig. 1).

Diese Eigenschaften würden sich gewiss nicht bei einer in Wasser lebenden Grünalge haben voraussehen lassen.

Die Verflüssigung des Nährbodens findet nur dann statt, wenn derselbe arm ist an Nährsubstanzen. Sehr geeignet zur Demonstration der Erscheinung ist die obengenannte Lösung von 10 % Gelatine in Grabenwasser, ohne jede andere Zufügung. Das Verflüssigen geschieht zwar viel langsamer als bei den Bacterien, allein es ist sehr lange anhaltend, sodass schliesslich Stichculturen in tiefen Reagensgläsern in einen dunkelgrünen Bodensatz, welcher von wasserklarer Flüssigkeit überdeckt ist, sich verwandeln (*e*, Fig. 1). Die Zellen sind dabei angeschwollen und die spitzen En-

den abgerundet, sodass eine ellipsoidische Form entsteht. Dass die aus der Gelatine gebildeten Umwandlungsproducte als Nährstoffe für *Scenedesmus* fungiren, lässt sich daraus ableiten, dass auf Agar-Agar in Grabenwasser gelöst, ein kaum merkliches Wachsthum sich zeigt. In Wasser, frei von organischen Substanzen, allein mit den nothwendigen Salzen und etwas Ammonnitrat, bleibt das Wachsthum überhaupt gänzlich aus.

Extractreiche, z. B. mit Malzdecoct versetzte Gelatine wird nicht verflüssigt.

Ebensowie bei den Bacterien und Pilzen beruht die Verflüssigung der Gelatine auf Ausscheidung eines tryptischen Enzyms durch die *Scenedesmus*-Zellen. Wasser, worin man etwas Eiweis oder Gelatine zuvor mit Pankreaspulver zur Verflüssigung gebracht und dann aufgekocht hat, ist dann auch ein ausgezeichnetes Nährsubstrat.

Aus mehreren Versuchen muss ich ableiten, dass für *Scenedesmus* nur Peptone (und vielleicht auch Amide) als Stickstoffquelle fungiren können, während Ammonsalze und Nitrate dafür untauglich sind.

Zucker, z. B. Rohrzucker, Glucose und Maltose können bei Gegenwart von Peptonen assimilirt werden. Ein schnelles Wachsthum findet dabei nicht statt und selbst schon ziemlich geringe Zuckerbeimischungen (5% und mehr) sind in Nährflüssigkeiten schädlich und Wachsthum hemmend. Die Wirkung des Zuckers wird desshalb am Besten beurtheilt an dicken Impfstrichen auf festen Unterlagen, worin sich der zu untersuchende Körper vorfindet. Auf diese Weise verwendet, kann nämlich ein höherer Zuckergehalt, ohne tödtlich zu sein, ertragen werden. So lässt sich *Scenedesmus* selbst cultiviren, — obschon das Wachsthum dabei sehr langsam ist, — auf mit Gelatine erstarrtem Malzextracte, welches eben bis zu 12 % Maltose enthalten kann. Die Zellform (*d*, Fig. 1) wird dabei gänzlich abgerundet, die Theilung veranlasst nur die Entstehung endogener Kugeln, welche lange mit einander in Zusammenhang und von der Membran der Mutterzelle umhüllt bleiben. Solche Zellen übertreffen die normalen *Scenedesmus*zellen, welche 20 μ lang und 7 μ dick sind, sehr beträchtlich an Grösse, denn sie können zu Kugeln von 40 μ anschwellen. Im Innern häuft sich die eigenthümliche, zwischen Amylum und Paramylum in der Mitte stehende Substanz an; das Chromatophor verliert auf solchen substanzreichen Nährböden aber die frisch grüne Farbe und schliesslich sieht man vom Chlorophyllfarbstoff kaum mehr etwas.

III.

Chlorella vulgaris[1]).

Wir sahen schon früher, dass diese Art den Hauptanteil hatte an der Grünfärbung des Wassers im April 1889. *Chlorella vulgaris* gehört zu den sehr gemeinen

[1]) Ich musste mich entschliessen, für diese sehr gewöhnliche Alge einen besonderen Namen zu wählen, obschon ich, wie gesagt, glaube, dass Rabenhorst dieselbe als *Chlorococcum protogenitum* besprochen hat. Die Diagnose Rabenhorst's ist aber unvollständig. Nun bin ich der Ansicht, dass man sich bezüglich der Nomenclatur an die Vorschrift Darwin's »Man solle sich auf die beste und vollständigste Monographie basiren«, halten muss. Desshalb ist Wille, der die Algen für Engler's und Prantl's »Natürliche Pflanzenfamilien« bearbeitet, meine Autorität. Wille nimmt die Gattung *Chlorococcum* in einer solchen Fassung, dass *Chlorella* wegen Mangel an Zoosporen darin nicht untergebracht werden kann, und *Chlorella* selbst scheint ihm unbekannt zu sein.

Algenarten. Man findet dieselbe beinahe in jeder Probe Grabenschlamm und an den verschiedensten abgestorbenen Wasserpflanzen. Auch wird sie oft in Wasserflaschen im Laboratorium bemerkt, in soweit das Wasser mit gewissen organischen Körpern verunreinigt ist [1]. Diese Art, welche die Gelatine nicht verflüssigt, selbst nicht nach anderthalbjähriger Cultur, wurde auf einer ganzen Reihe von Nährboden cultivirt. Auf 8 % Gelatine in einer entsprechenden Menge Leitungswasser gelöst, kamen z. B.: Erstens, 1 % durch Pancreaspulver geschmolzene Gelatine, 0,5 % salpetersaures Ammon und 0,5 % Kaliumphosphat. Zweitens, 0,8 % Peptonsiccum, 0,2 % Asparagin und 1 % Rohrzucker. Drittens, 0,5 % Pepton und 0,5 % Asparagin. Viertens, 0,5 % löslicher Stärke, 0,5 % Asparagin und Pepton. Fünftens, keine Zufügungen [2].

Während das Wachsthum auf diesen so verschiedenen Nährböden anfangs ziemlich gleich schnell war, so liess sich doch schliesslich in der gesammten Quantität neugebildeter Zellen ein sehr bedeutender Unterschied bemerken und zwar in dem Sinne, dass die zweite Mischung, welche also Rohrzucker, Pepton und Asparagin enthielt, weitaus am fruchtbarsten war. Dieses veranlasste mich, erstens den Rohrzucker durch Glucose oder Maltose zu ersetzen, — es ergab sich, dass auch diese Zuckerarten leicht assimilirt werden. Ferner suchte ich durch Weglassen von Pepton und alleinige Zugabe von Asparagin, oder umgekehrt, durch Peptonzufügung zum Rohrzucker bei Abwesenheit von Asparagin, festzustellen, welcher von diesen Körpern als Stickstoffquelle fungiren kann. Es stelte sich heraus, dass das Pepton sicher weitaus am leichtesten aufgenommen wird. Ja, alles deutete darauf hin, dass nur Pepton allein in dieser Beziehung wichtig ist und, dass weder Asparagin noch salpetersaures Ammon den Rohrzucker zur vollständigen Nahrung zu ergänzen vermögen. Die immerhin beschränkte Menge neugebildeter Zellen und der Peptongehalt der käuflichen Gelatine machen die Beurtheilung eines solchen Resultates schwierig. Bei einiger Uebung aber lässt sich das Product der relativen Ausgiebigkeit des Wachsthums in Impfstrichen und Colonien, wie jeder Bacteriologe weiss, mit genügender Genauigkeit schätzen, wenn es sich handelt um den Vergleich zweier oder mehrerer Culturen, selbst dann, wenn die Trockensubstanz der neugebildeten lebenden Materie unwägbar wäre.

Füge ich dem Obigen noch hinzu, dass unsere *Chlorella* bei ungehinderter Beleuchtung Kohlensäure zersetzt unter Sauerstoffentbindung und Erzeugung eines Kohlenhydrates, und nur dann ohne Zuckergegenwart auf Kosten von Pepton und Kohlensäure wachsen kann, so sehen wir, dass diese Art, eben wie *Scenedesmus acutus* in das, auf die Stickstoffernährung gegründete physiologische System der Mikroben, den Pepton-Kohlenstofforganismen zugefügt werden kann [3].

[1]) In Gypswasserfläschchen, welche in meinem Laboratorium dem Lichte eines Nordfensters zugekehrt sind, bildet sich ein Beschlag von *Pleurococcus vulg.* In einem grossen Kolben, angefüllt mit destillirtem Wasser, worin Nährsalze und Ammonsulfat vorkommen, entsteht ein Sediment von *Chlorella infusionum.* Zu Boden eines grossen gläsernen Gefässes, worin Leitungswasser sich selbst überlassen bleibt, finde ich *Stichococcus major.* Diese Formen stellen der Hauptsache nach die sogenannte Priestley'sche Materie dar.

[2]) In allen Fällen war die Reaction neutral oder sehr schwach sauer.

[3]) Man vergl. meine Abhandlung »Ueber Lichtnahrung und plastische Nahrung der Lichtbacterien« in »Verslagen en Mededeelingen der Kon. Akad. van Wetenschappen.

Die beschriebene Erfahrung veranlasste mich, Versuche mit anderen Nährmedien anzustellen und zwar mit stark zuckerhaltigen Substanzen, wie concentrirtem Malzextract. Wenn dieses mit Nährgelatine erstarrt wird, so entsteht ein ganz vorzüglicher Boden, worauf Impfstriche zur üppigen Entwicklung gelangen und viel mehr Zellen erzeugen, wie auf den genannten künstlichen Medien. Ich konnte leicht feststellen, dass diese erhöhte Entwicklung nicht z. B. von den Phosphaten [1]) verursacht wurde, sondern auf der für das Mikrobenwachsthum überhaupt so vorzüglich geeigneten Natur der Malzpeptone beruhen muss.

Das ausgiebige Wachsthum und die intensiv schwarzgrüne Farbe verleiht den *Chlorella*culturen auf Malzgelatine etwas ungemein Auffallendes.

Indem ich wünschte, für gewisse Versuche über die Sauerstofferzeugung durch das Chlorophyll grössere Massen rein cultivirter *Chlorella*zellen zu besitzen, lag es nahe, durch die Cultur in flüssigen Medien diesen Zweck zu erreichen. Gebraucht man eine geeignete Nährflüssigkeit, so bekommt man bald einen tief grünen, aus *Chlorella* bestehenden Bodensatz, von welchen die überstehende Flüssigkeit ganz klar abgegossen werden kann. Vermischt man dieses grüne Sediment mit der noch flüssigen Gelatine, so gelingt es leicht, grüne Gelatineplatten von jeder beliebigen Intensität der Farbe anzufertigen.

Die vermittelst der Gelatinemethode festgestellten Ernährungsbedingungen machten die Wahl der Nährstoffe für die flüssigen Culturen nicht unsicher. Es wurde in Leitungswasser 2% Gelatine gelöst und diese Lösung mit etwas Pancreaspulver vermischt, während einer Nacht in einem Thermostaten bei 40° gelassen. Nach 12 Stunden aufgekocht, entstand dann eine gelblich gefärbte Lösung, welche filtrirt und aufs Neue gekocht wurde. Solche Lösungen sind entweder steril oder nicht steril, je nachdem die bei Kochhitze resistenten Bacteriensporen vollständig getödtet oder theilweise lebendig geblieben sind. Wünscht man auch diese letzteren zu vernichten, so ist ein erneutes Aufkochen der Flüssigkeit, nachdem diese bei 40° verweilt hat, um die Sporen zum Auskeimen zu bringen, nothwendig. Ich muss jedoch bemerken, dass diejenigen Bacterien, deren Sporen Kochhitze ertragen können mit nur vereinzelten, und bei den hier zutreffenden Culturbedingungen überhaupt nicht vorkommenden Ausnahmen, nicht nur nicht schädlich, sondern sogar günstig für das Wachsthum von *Chlorella* und den übrigen von mir untersuchten Algen sind. Da das Factum in mancherlei Beziehung wichtig ist, vor allem, wenn man überlegt, dass andere Bacterienarten sehr bald die letzten Spuren einer Algenvegetation in anorganischen Körpern so reichen Infusen, wie die hier verwendeten, vollständig vernichten, so will ich darüber noch Folgendes anführen.

Amsterdam. Reeks 3, Deel VII, p. 255, 1890«. Dort wird man angegeben finden, dass zahlreiche Lebensformen, Bacterien, Hefe, Schimmel, Protozoen etc., sich nach der Natur derjenigen Körper, denen dieselben den nothwendigen Ernährungsstickstoff entlehnen können, sich wie folgt anordnen lassen. *Erste Gruppe.* Pepton-Kohlenstoffmikroben — die vollständige Ernährung erfordert neben Pepton irgend eine andere Kohlenstoffquelle, wie z. B. Zucker. *Zweite Gruppe.* Pepton, mikroben — die Ernährung erfordert nur Pepton. *Dritte Gruppe.* Amidmikroben. *Vierte Gruppe.* Nitrat- und Ammonmikroben.

[1]) Alle oben genannten künstlichen Nährmedien enthalten in der Gelatine an sich genügend Phosphate, um den Bedürfnissen der *Chlorella*ernte zu entsprechen.

Die Arten der bei Kochhitze resistenten Bacterien sind bisher noch niemals einer umfangreichen Bearbeitung unterworfen, sodass es nicht möglich ist, sich bei deren Beschreibung auf genügende Litteraturangaben zu stützen. Mir selbst sind im Laufe der Zeit wenigstens zehn wohl erkennbare Formen zu Gesicht gekommen. Nur eine davon, *Bacterium fabaceum* n. s., welche sich in fauligen Bohneninfusen findet, besitzt das Vermögen, die Nährgelatine zu verflüssigen überhaupt nicht, alle übrigen zeigen diese Eigenschaft unter bestimmten Umständen mehr oder weniger deutlich, gewöhnlich in sehr hohem Maasse, wie z. B. die allbekannten Heu- und Kartoffelbacillen und die Bacterien der Darmfäulnis *(Bacillus putrefaciens coli)*. Nun sind es besonders die stark verflüssigenden, so ausserordentlich häufig im Erdboden, in Humus, auf Pflanzenblättern und anderswo vorkommenden Formen, welche man in den festen und flüssigen Nährmassen durch Sterilisiren zu tödten hat. Diese Arten sind es aber auch, welche nicht nur in den Culturen niederer Algen gut vertragen werden, sondern welche eben für das Wachsthum dieser grünen Organismen förderlich sind. Diese günstige Wirkung macht sich bezüglich der genannten Algen, wie bei anderen Mikroben, z. B. bei den gewöhnlichen Lichtbacterien, leicht bemerklich. Offenbar muss dabei ein tiefer Unterschied in den hauptsächlichsten Ernährungsbedingungen beiderlei Organismengruppen maassgebend sein, und die einzige verständliche Annahme glaube ich in dem nachfolgenden Verhalten suchen zu müssen. Die beiderseitige Wachsthumsförderung sah ich nur dort eintreten, wo Eiweisskörper oder Gelatine in der Nahrung gegenwärtig waren und desshalb das Eiweiss zerlegende Enzym der kochfesten Bacterien zur Wirkung kommen konnte. Nun entstehen bei der Einwirkung des Trypsins jedenfalls zwei Peptonarten, möglich, allein nicht sicher, auch noch Amidosäuren. Für die Ernährung der Mikroben kommt den Peptonen in unserem Falle die Hauptbedeutung zu. Wenn nun von diesen beiden Peptonen nur die eine Art den kochfesten Bacterien zu gute kommt, während die andere Art, oder beide zusammen, für die grünen Algen assimilirbar sind, und nach meiner Ansicht trifft dieses wirklich zu, so hat man eine genügende Erklärung für diesen eigenthümlichen Fall eines nur in den Laboratorien herstellbaren symbiotischen Verhältnisses.

Schliesslich will ich noch eine biologische Eigenthümlichkeit unserer, bei der Siedhitze nicht sofort getödteten Bacterien erwähnen, welche für das Zusammenleben mit anderen Mikroben nicht unwichtig ist. Sie besteht darin, dass diese Bacterien bei den für die Algen günstigen Vegetationstemperaturen, welche 20° C. nicht überschreiten dürfen [1]), ausserordentlich langsam wachsen, so dass man ihre Gegenwart erst nach Wochen oder Monaten bemerkt und wodurch ein gutes Gleichgewicht mit den ebenfalls so langsam wachsenden Algen hergestellt bleibt.

Fertigt man Gelatineculturen solcher grünen bacterienhaltigen Algenvegetationen an, so ergiebt sich die Zahl der darin enthaltenen Bacterien als ausserordentlich gross, und wenn es sich darum handelt, eine durch die Algen grüngefärbte Gelatineplatte zu erhalten, so müssen, um das Verflüssigen vorzubeugen, antiseptische Stoffe, wie Zucker, am besten Maltose, zugefügt werden, welche das Algenwachsthum weniger hemmen, wie die Vermehung und Enzymbildung der Bacterien. Nach einiger

1) Ihre eigenen optimalen Vegetationstemperaturen liegen zwischen 40 und 50° C, ja bei den Heubacillen selbst noch höher.

Zeit ist der Zucker jedoch verbraucht, und das Verflüssigen kann dann nicht länger zurückgehalten werden. Wie gesagt, ist es aber leicht, die Culturflüssigkeit durch wiederholtes Kochen vollständig zu sterilisiren und durch Pepton und Zucker sofort zu einer geeigneten Nährlösung für die Alge zu machen.

Kehren wir aber zu den flüssigen Culturen zurück.

Auch darin ist Zucker, wie schon gesagt, förderlich für das Wachsthum, und auch hier erwies sich ein verdünntes Malzextract als vorzüglich. Die Versuche, *Chlorella* in Nährflüssigkeiten zu cultiviren, welche nur anorganische Nahrung enthielten, z. B. in reinem Leitungswasser, sind, bei genügender Beleuchtung, zwar nicht vollständig misslungen, allein die Zahl der neugebildeten Zellen war so gering, und das Wachsthum stand so frühzeitig, selbst bei Ammon- und Phosphatzufügung, stille, dass ich die Zelltheilung nur auf die Gegenwart geringer Spuren peptonartiger Körper in dem Wasser zurückzuführen weiss. Die Erzeugung lebender Zellen aus den organischen Substanzen, welche sich selbst im reinsten Wasser vorfinden, ist wohl das empfindlichste Reactiv, um diese Substanzen für unsere Wahrnehmung bemerkbar zu machen [1]).

Ich habe einige Versuche ausgeführt, um *Chlorella* in Meereswasser zu cultiviren. Bei Zufügung einiger Tropfen Malzdecoct, oder von ein wenig durch Bacterien oder durch Pancreas verflüssigte Gelatine, war bemerkbares, allein doch immerhin nur sehr langsames und beschränktes Wachsthum zu erreichen. Der Zellinhalt war dabei gänzlich verändert, denn das Chromatophor, welches gewöhnlich die Form einer halben Kugelschale besitzt (*a*, Fig. 2), erfüllt in den Meereswasserzellen den ganzen körnigen Zellinhalt. In den letzteren war der Zellkern, welcher anders, infolge der sehr abweichenden Structur kaum als solcher erkannt werden würde, sehr deutlich zu sehen und durch das Vorkommen eines Kernkörperchens characterisirt.

Ich will nun zur Beschreibung der Vermehrung der *Chlorella*zellen übergehen.

Diese findet ebenso wie bei *Scenedesmus* nur statt vermittelst freier Zellbildung und ohne Schwärmsporenerzeugung.

Uebrigens ist die Beeinflussung der Gestalt der Zellen und der Structur der Zellenhaut bei *Chlorella*, selbst bei der Verwendung der allerverschiedensten Nährböden, ausserordentlich gering und überhaupt nicht zu vergleichen mit dem, was wir bei *Scenedesmus* beobachteten.

Die immer kugeligen *Chlorella*zellen sind sehr verschieden an Grösse, sie wechseln zwischen 3—8 μ [2]). In jeder derselben bemerkt man, wie oben schon angeführt, einen seitlichen Chlorophyllkörper, welcher der Zellwand als Segment einer Kugelschale eng anliegt und ein Viertel, ja die Hälfte der Zelle ungefärbt lässt. In diesem ungefärbten Theile liegt irgend ein kleines, homogenes Körperchen, welches die gewöhnlichen Kernreactionen zeigt, jedoch gänzlich homogen ist, und so sehr abweicht in Grösse und Lage, dass man sich nur schwer entschliessen kann, darin den wahren Kern zu sehen. Auf Grund der Analogie mit ähnlichen Gebilden bei den niederen Pilzen, z. B. bei den Saccharomyceten, welche ich in schönen, mir zur Verfügung ge-

---

[1]) Vergl. auch Heraeus, Zeitschr. für Hygiene, Bd. I, S. 226, 1886.

[2]) Zellen, welche weniger wie 5 μ messen, laufen beim Filtriren ziemlich vollständig durch schwedisches Filtrirpapier. Daher lässt *Chlorella* sich nicht abfiltriren. Hefezellen dagegen, welche im Mittel 8 μ messen, bleiben beinahe vollständig auf dem Filter zurück

stellten, gefärbten Präparaten von Professor Moll kennen lernte, fühle ich mich jedoch gezwungen, das Körperchen als den Kern zu betrachten. Nicht selten kommt es in Zwei- selbst in Dreizahl vor, allein auch dieses trifft zu für die genannten Pilzzellen. Die Substanz dieser rudimentären Kerne, worüber Moll nähere Mittheilungen in Aussicht gestellt hat, ist Chromatinsubstanz. Das Wachsthum derselben ist mit Zweitheilung gepaart.

Der eigentlichen Zelltheilung geht die Theilung des Chromatophors voraus. Dieses fällt, der Norm nach (*d*, Fig. 2), zuerst in zwei, später in vier, dann in acht und schliesslich in sechzehn gleichwerthige Theilstücke auseinander, ohne dass mit dieser Vermehrung auch ein adaequates Wachsthum der ganzen Mutterzelle einherzugehen braucht. Zugleich mit dem Chromatophor hat sich der Kern vermehrt und das farblose Protoplasma scheint sich dem Theilungsprocess ebenfalls anzuschliessen, sodass man schliesslich sechzehn sehr kleine Zellen innerhalb der Zellhaut der Mutterzelle beobachten kann.

Letztere wird zerprengt und lässt die Tochterproducte frei, welche bald anschwellen zu der schliesslich zu erreichenden Grösse.

Abweichungen von diesem regelmässigen Vermehrungsvorgange findet man in dem Ausbleiben der Theilung irgend eines der Producte der Zwei-, Vier- oder Achttheilung, und in dem weit seltener vorkommenden Falle der Vermehrung durch Abschnürung.

Bei sehr günstiger Ernährung, z. B. in flüssigen Medien, geht die Zelltheilung auf jeder Stufe mit Wachsthum zusammen (*c*, Fig. 2), wodurch gewöhnlich schon bei der zweiten Theilung die Zellhaut der Mutterzelle abgestreift wird.

Wie gesagt, erzeugt *Chlorella* keine Schwärmsporen. Ich habe deren Culturen nun seit mehr als einem Jahre täglich unter den verschiedenartigsten Bedingungen vor Augen gehabt, und mich durch das sehr anziehende mikroskopische Bild veranlasst gefühlt, jede abweichende Farbe und jede anscheinende Vegetationsveränderung genau zu verfogen, sodass ich auf Grund einer ungewöhnlich reichen Erfahrung spreche. Es hat sich dabei herausgestellt, dass unsere *Chlorella* eine »gute Art« ist und durchaus nicht als *Protococcus*zustand irgend einer höheren Alge aufgefasst werden kann.

Ich habe alles Dieses etwas ausführlicher betrachtet, weil ich in der Gattung *Chlorella* die niederste Form der Hauptreihe der grünen Algen sehe und die Lebensgeschichte eben solcher Anfangsformen mir besonders wichtig erscheint.

Ueber die verwandtschaftlichen Beziehungen unserer Alge können wir nicht zweifelhaft sein. Legen wir die von G. Klebs gegebene Eintheilung[1]) zu Grunde, so müssen wir *Chlorella* zu den Pleurococcaceen rechnen, welche bei Klebs als die niederste Algengruppe angeführt werden, unter der Diagnose: »Zellen einzeln oder in lockeren Gallertverbänden, sich vermehrend durch succedane Zweitheilung; die Producte der Theilung stets einander gleich, ruhend; jede Zelle ist fähig in den Dauerzustand überzugehen. Beispiele: *Pleurococcus, Stichococcus, Dactylococcus (?), Raphidium, Scenedesmus, Porphyridium (?)*.

Auch bei Einreihung in das von Wille[2]) adoptirte System ist kein Zweifel

[1]) Ueber die Organisation einiger Flagellatengruppen, in Pfeffer's Untersuchungen etc., Bd. I, S. 342, 1885.

[2]) Die natürlichen Pflanzenfamilien, Bd. I, Abth. 2, S. 54, 1890

daran, dass *Chlorella* zu den Pleurococcaceen, nach seiner Fassung, gebracht werden muss und zwar in die Verwandtschaft von *Eremosphaera* de Bary, wovon *Chlorella* sich aber bedeutend unterscheidet, nämlich: Dadurch, dass das Chromatophor einfach ist, während *Eremosphaera* mehrere Chlorophyllkörper einschliesst; durch die Theilung, welche, wie wir sahen, zu sechzehn Theilproducten einer Mutterzelle führt, bei *Eremosphaera* zu je zwei; und durch die viel geringere Grösse der erwachsenen Zellen.

IV.

Versuche über die Sauerstoffentwicklung im Lichte durch *Chlorella*, sowie durch andere Algen.

Die erste Anleitung zu meinen Culturversuchen mit Algen war aus dem Wunsche entstanden die Sauerstoffentwicklung durch das Chlorophyll innerhalb einer Gelatineschicht stattfinden zu lassen. Es erschien dadurch möglich, local entbundenen Sauerstoff, z. B. in den verschiedenen Regionen eines auf die Gelatineplatte geworfenen Sonnenspectrums auf mehrfache Weise eben an der Stelle der Entstehung, sei es vorübergehend oder durch bleibende Effecte sozusagen fixirt, sichtbar zu machen. Die Resultate haben meine Erwartung nicht getäuscht und ich will hier die Methode kurz besprechen. Mehrere Versuche wurden gemeinsam mit Herrn Dr. H. P. Wysman ausgeführt, dem ich hier meinen Dank ausspreche [1]).

Als »Reactive« auf freien Sauerstoff verwendete ich erstens das Wachsthum der *Chlorella*zellen selbst, oder das anderer Mikroben; zweitens, durch Natriumhydrosulfit reducirtes Indigblau; drittens, das Aufleuchten von Lichtbacterien, welche zu gleicher Zeit mit den grünen Organismen der Gelatine untermischt wurden.

Die Versuche mit Indigweiss [2]) wurden folgendermaassen ausgeführt: In einem Reagensröhrchen wurde eine zehnprocentige Gelatinelösung in Grabenwasser mit soviel *Chlorella*zellen vermischt, dass sie intensiv grün gefärbt war. Es wurde dann neutrales indigschwefelsaures Natrium zugesetzt und dieses vermittelst Natriumhydrosulfit, in geringem Uebermaass, reducirt. Bei der Abkühlung entstand eine grünlichgelbe gefärbte Säule, welche für die Lichtversuche fertig war. Unter Glokkenflaschen, angefüllt entweder mit ammoniakalischer Kupferlösung, oder mit Kaliumbichromat, waren die Resultate im Lichte der Junisonne in Uebereinstimmung mit den bekannten Erfahrungen; das blaue Licht wirkt wie dunkel, selbst noch nach Stunden blieb das Indigweiss reducirt; dagegen war ein Röhrchen im Bichromatlicht schon nach wenigen Minuten tief blau. Die Glockenflaschen mit einer Chlorophyll-

[1]) Für einige Versuche, welche ich hier nicht anführe, verweise ich auf meinen früher (S. 297, Note 3) genannten Vortrag.

[2]) Regnard (Comptes rendus, Dec. 1885) scheint der erste gewesen zu sein, welcher Hydrosulfit und Indigblau für die Untersuchung der Chlorophyllfunction verwendet hat. Pringsheim (Berichte der Deutsch. bot. Gesellschaft, Bd. 4, S. 87, 1886) hat diese Methode ungerechter Weise verworfen. Offenbar war es ihm unbekannt, dass man das Hydrosulfit in einem geringen Uebermaass zusetzen muss, weil ein Theil des Sauerstoffs bei schwacher Beleuchtung neben Hydrosulfit und Indigweiss bestehen kann, und welcher Sauerstoff, nur nachdem derselbe durch starkes Licht activirt ist, das Indigweiss blau färbt. Das Hydrosulfit muss ausreichen, um auch das durch diesen activen Sauerstoff erzeugte Indigblau zu reduciren.

lösung anzufüllen, wurde nicht versucht, weil eine solche Lösung im Lichte sofort zersetzt wird.

Dem directen Sonnenlichte ausgesetzt, bilden sich auf der beleuchteten Seite bald Sauerstoffblasen, welche von der Gelatine festgehalten werden. Nach wenigen Tagen werden die Culturen durch das Heranwachsen der vereinzelten Zellen zu Colonien viel dunkler grün wie im Anfang.

Diese Versuche haben eine bestätigende Antwort gegeben auf die Frage, ob lebende grüne Zellen in einem vollständig sauerstofffreien Raume Kohlensäure zu zersetzen vermögen. Claude Bernard zweifelte daran, Pringsheim hat es verneint.

Interessanter war folgendes Ergebnis.

Ein ganzes Röhrchen, mit Ausnahme eines kleinen, unbedeckt gelassenen Theiles der Gelatine, wurde in schwarzes Papier eingewickelt. Ich liess nun in einem dunkeln Zimmer auf den unbedeckten Theil der Röhre ein vermittelst einer Linse convergirend gemachtes Lichtbündel fallen, welches entweder von einer Bunsen'schen Flamme kam, worin Lithiumchlorid glühte, oder von einer solchen Flamme, welche durch Natriumcarbonat gelb gefärbt war. Die Erwartung, dass das Lithiumlicht im Stande sein müsste, Kohlensäure zu zerlegen und Sauerstoff zu erzeugen, weil dessen Linienspectrum ein sehr intensives Roth von der Brechbarkeit $\lambda = 670$ [1]) enthält, welche genau innerhalb der Grenzen des Chlorophyllabsorptionsbandes zwischen *B* und *C* gelegen ist, während die Natriumlinie, $\lambda = 589$, sich in dieser Hinsicht als inactiv ergeben sollte, diese Erwartung hat sich wirklich bestätigt. Im Lithiumlicht färbt sich die isolirte Gelatine nach drei- bis vierstündiger Exposition dunkelblau; im Natriumlicht geschah dieses nie, selbst nicht nach achtstündiger Beleuchtung.

Besser als Indigweiss ist das Mikrobenwachsthum als Reactiv auf freien Sauerstoff zu verwenden. Diese Methode erlaubt eine ganze Reihe von Modificationen. Ein gutes und sicheres Verfahren ist das folgende. Ein allseitig geschlossener, durch parallele Glasplatten begrenzter Raum von ein Paar mm Dicke, wird mit der Versuchsgelatine angefüllt und local der Einwirkung irgend einer Lichtquelle ausgesetzt. Als Versuchsplatte lässt sich eine 10-procentige Gelatinelösung verwenden, zu welcher ein wenig Malzextract und soviel *Chlorella*zellen gemischt werden, dass die Zellen zwar überall vorhanden sind, allein doch nicht genug, um die erstarrte Schicht grün zu färben. An den local beleuchteten Stellen beginnt das Wachsthum schon nach ein Paar Tagen infolge der dort stattfindenden Sauerstoffentwicklung, während an den nicht beleuchteten Stellen das Wachsthum vollständig ausbleibt. Es entstehen demzufolge dunkelgrüne Flecke, welche sehr genau den beleuchteten Stellen entsprechen, auf farblosem Grunde. Die Grenzen der Lichtfiguren sind überraschend scharf. Ein feiner Faden quer über das Lichtfeld ausgespannt, erzeugt darin einen deutlich sichtbaren, ungefärbt bleibenden Schatten. Bei der mikroskopischen Untersuchung findet man natürlich an der beleuchteten Stelle Colonien von der Structur der Fig. 2 *c*, anstatt vereinzelter Zellen.

---

[1]) Kayser, Lehrbuch der Spectralanalyse, S. 290, 1885. Da die Ausführung sehr einfach ist, habe ich den Versuch dann und wann wiederholt. Ich darf nicht unterlassen, hervorzuheben, dass durch unbekannte Ursachen auch im Lithiumlicht die Gelatine bisweilen farblos, also reducirt blieb.

Um Kohlensäuremangel vorzubeugen, konnen der Gelatine noch überdies 1 oder 2 % Glucose, sowie eine genügende Anzahl Zellen irgend einer *Mycoderma*art (z. B. *M. sphaeromyces)*, welche bei Sauerstoffzutritt aus der Glucose nur Kohlensäure und Wasser erzeugt, zugefügt werden. Da diese Zellen, wie *Chlorella*, bei Abwesenheit von Sauerstoff vollständig inactiv sind und dann auch nicht wachsen, so helfen sie, eben an den Stellen der Sauerstoffentbindung, den Wachsthumseffect von *Chlorella* zu erhöhen.

Da die Lichtbacterien momentan auf den entstandenen Sauerstoff reagiren, können die Versuche damit auch bei Gegenwart fremder Bacterien stattfinden. Die Lichtbacterien sind aber alle an das Meerwasser adaptiert, sodass sie sich nur eignen für das Studium der Chlorophyllfunction von Meeresalgen. Als Substrat empfiehlt sich eine sehr verdünnte Nährgelatine oder einfach Meereswasser mit 10% Gelatine oder 1½% Agar, darin werden die Lichtbacterien in grosser Anzahl vertheilt.

Die sehr einfache Versuchsanstellung geschieht folgendermaassen.

Braune Diatomeen werden zu gleicher Zeit mit den Lichtbacterien in der Gelatine fein vertheilt; eine Tange oder eine Ulve wird in geeigneter Weise mit der Lichtbacterien enthaltenden Gelatine übergossen und allseitig eingeschlossen. Das Ganze befindet sich zwischen zwei parallelen Glasplatten, worauf das Spectrum projicirt werden kann.

Das beinahe plötzliche Aufleuchten bei dem Beginne der Lichtinsolation an den Stellen der Sauerstoffentbindung ist ebenso überraschend wie interessant.

V.

Versuche mit Zoochlorellen.

Als ich im Frühjahr 1889 *Chlorella vulgaris* kennen lernte, war ich durch die grosse Aehnlichkeit dieser Art mit den Zoochlorellen von *Hydra* und *Stentor* so sehr überzeugt, dass die Alge nur ein freilebender Zustand der Zoochlorellen sein konnte, dass Versuche, die letzteren isolirt zu cultiviren, mir anfangs überflüssig erschienen. Nur der Wunsch, in dieser Beziehung vollständige Sicherheit zu erlangen, veranlasste mich, eine Reihe von Wasser- und Gelatineculturen mit dem thierischen Chlorophyll auszuführen. Das Resultat war ein durchaus negatives; die freie Cultur der grünen Körper aus den chlorophyllführenden Thieren ist bisher in keinem Falle gelungen [1]).

Meine Beobachtungen an *Hydra viridis* und an der grünen Varietät von *Stentor polymorphus* sind am vollständigsten. Ausserdem untersuchte ich mehr beiläufig *Paramaecium Aurelia* und *Spongilla fluviatilis*.

Fangen wir unsere Betrachtungen an mit *Hydra viridis*. Während eines Jahres erhielt ich nach Intervallen von einem bis mehreren Monaten lebendes Untersuchungsmaterial von dem Händler mit mikroskopischen Thieren, Thomas Bolton zu

[1]) Nachträgliche Bemerkung. Aus Wasserculturen der Hydrachlorellen, wie solche S. 306 beschrieben sind, erhielt ich in der letzten Zeit in und auf Grabenwassergelatine wohl entwickelte Colonien. Die Möglichkeit des freien Wachsthums der Chlorellen ausserhalb des Thieres ist dadurch erwiesen. Auf diese Beobachtung konnte in den folgenden Seiten keine weitere Rücksicht genommen werden.

Manchester. In reinem filtrirten Grabenwasser kann man die Thiere im Laboratorium im Becherglase leicht lebendig halten [1]).

Der *Hydra*körper, sowie die Arme (*d*, Fig. 5) der Thiere bestehen aus zwei Zellschichten, einem Ektoderm und einem Entoderm. Im Ektoderm bemerkt man in den Epidermiszellen die Nesselkapseln, wovon eine im ausgeschnellten Zustande, die übrigen noch geschlossen in unserer Figur dargestellt sind. Zwischen den Epidermiszellen liegen die sehr eigenthümlichen, kolbenförmigen oder cylindrischen, massiven Drüsenzellen zerstreut.

Die Entodermzellen (*d*, *e* und *f*, Fig. 5) besitzen amöboide Natur, wenigstens sieht man das Protoplasma derselben in den Präparaten in kräftiger Bewegung. Auf der dem Magenraume des Thieres zugewendeten Seite findet sich gewöhnlich eine sehr geräumige Vacuole (*e*, *Fig. 5)*. Diese Zellen dürften eine amöboide Ernährung der Hydren ermöglichen, das heisst, die directe Aufnahme fester Körper aus den verschlungenen Speisen.

Die Zoochlorellen liegen in ziemlich geringer Anzahl stets und ausschliesslich in den Entodermzellen und zwar auf der dem Ektoderm zugekehrten Seite, also so viel wie möglich nach aussen. Hier bilden dieselben eine dünne, geschlossene, Schicht, welche den ganzen Körper des Thieres, so zu sagen gleichmässig einhüllt. Hier finden wir desshalb eine genau bestimmte morphologische Lage der Chlorophyllkörper. In den Ektodermzellen fehlen sie vollständig.

Besonders leicht lässt sich die Vermehrung der Zoochlorellen verfolgen bei der Entwicklung der Thiere aus den Seitenknospen. Dem Augenschein nach zeigt sich dabei, dass die Chlorellen einen integrirenden Bestandteil der Zellen darstellen und es lässt sich nicht leugnen, dass sie wenigstens bei ihrer Vermehrung in einem gewissen morphologischen Einklang mit der Zelltheilung des Thieres verbleiben. Jede neugebildete Entodermzelle erhält ihre Zoochlorellen auf dieselbe Weise, wie sie ihren Zellkern bekommt, das heisst, durch die Theilung der Chlorellen der Mutterzelle in gleichmässigem Rythmus. Nur vereinzelte Zellen erhalten dabei überhaupt keine Chlorophyllkörner (*f*, Fig. 5, Zelle links unten), und führen anstatt dessen farblose Kugeln, welche wie Oeltropfen aussehen, über deren Natur ich aber unsicher bin. Selbst die weiblichen Fortpflanzungszellen enthalten nach Hamann [2]) normale Zoochlorellen. Das alles sind gewiss wichtige Argumente für die Ansicht Ray Lankesters [3]), nach welcher die grünen Körper keine fremden Algen, sondern Producte des thierischen Protoplasmas selbst sind. Diese Ansicht ist jedoch sicher unrichtig, nur liegt hier ein Fall vor, ähnlich demjenigen der Bacteroiden in den Papilionaceenknöllchen.

Die Zoochlorellen an sich sind so ausgezeichnet von Brandt beschrieben und abgebildet [4]), dass ich in dieser Beziehung auf seine Abhandlung verweisen kann.

---

[1]) Ich habe für solche Zwecke vor einem Südfenster in meinem Laboratorium einen allseitig aus Glasplatten construirten Kasten mit Glasthüren und mit weissem Papier bedecktem Boden. Meine grünen Organismen wachsen in diesem staubfreien Raume vorzüglich.

[2]) Zeitschrift f. wissenschaftliche Zoologie, Bd. 37, S. 457, 1883.

[3]) The Chlorophyllcorpuscles of *Hydra*, Nature, Vol. 27. p. 87, 1883.

[4]) Ueber die morphologische und physiologische Bedeutung des Chlorophylls bei Thieren. Erster Artikel: His, Braune und Du Bois Reymond's Archiv, Physiol

Eben daraus wird man die Ueberzeugung erlangen, dass seine Chlorellen meiner oben beschriebenen Alge *Chlorella vulgaris* zum Verwechseln ähnlich sind, sowohl in Bezug auf Bau wie auch in Bezug auf Vermehrung. In letzterer Beziehung erlaube ich mir noch Folgendes zu bemerken.

Die Theilung der Chlorellen wurde zuerst gesehen und gezeichnet durch Balbiani bei *Stentor polymorphus*[1]). Das Einzige, wodurch dieser Process sich unterscheidet von dem, was wir bei *Chlorella* gesehen, besteht darin, dass weder Balbiani noch Brandt noch ich selbst innerhalb der einzelnen Mutterzelle mehr als 4 Tochterzellen entstehen sahen, während diese Zahl bei *Chlorella*, wie gesagt, bis sechzehn wachsen kann. Uebrigens ist die Viertheilung (*a*, Fig. 5) der Zoochlorellen ebenfalls ein Vorgang freier Zellbildung, was nur dadurch schwierig zu beobachten ist, dass die Zellwand dieser Zellen ausserordentlich dünn ist, wesshalb dieselbe nach dem Abstreifen überhaupt nicht gesehen werden kann, während dieses bei *Chlorella* so leicht gelingt (*d*, Fig. 2).

Uebrigens sind mit dem Gesagten die Schicksale der Zoochlorellen innerhalb des Thierkörpers noch nicht vollständig geschildert. Die genaue mikroskopische Prüfung der Amöboidzellen von *Hydra* lehrt uns nämlich noch das Folgende.

Entweder in dem Protoplasma dieser Zellen oder in deren Vacuolen findet man nicht nur grüne Körper von allerlei Grösse bis zur äussersten Kleinheit, sondern in einzelnen Fällen dunkelrothe Pigmentkörner (*c* und *e*, Fig. 5), oder eine bräunliche Detritusmasse. Der Ursprung dieser Theilchen lässt sich ganz sicher auf die Chlorellen zurückführen. In den rothen Pigmentkörnern lässt sich noch die Structur der Algenzellen erkennen (*c*, Fig. 5), indem sich daran ein gefärbter Theil, welcher dem Chromatophor entspricht, und ein ungefärbter Theil vorfindet. Die Pigmentkörper sind zwar sehr klein, allein nicht kleiner als die kleinsten Zoochlorellen, und auch der Farbe nach sind dieselben durch alle Uebergänge mit den Chlorophyllkörnern verbunden. Ich halte es desshalb für sicher, dass die rothen Körperchen Involutionszustände der kleineren Chlorellen sind, welche durch einen Verdauungsprocess, seitens des tierischen Protoplasmas ausgeübt, entstehen. Ferner schliesse ich daraus, dass auch die scheinbar normalen grünen Algenzellen einen Kampf mit dem thierischen Protoplasma zu führen haben, wodurch ihre Vitalität herabgesetzt wird. Offenbar ist die Ansicht Kleinenberg's[2]), nach welcher die Zoochlorellen als gewöhnliche Nahrung verdaut werden können, mit den beschriebenen Beobachtungen in guter Uebereinstimmung.

Und nun meine Versuche mit dem Hydrachlorophyll.

Zum Zwecke der Cultur der Hydrachlorellen glaubte ich mich zunächst basiren zu können auf meine mit *Chlorella vulgaris* gemachten Erfahrungen. Ich habe desshalb eine Reihe von *Hydra*individuen in flüssiger und auf erstarrter Nährgelatine von allen denjenigen Mischungsverhältnissen, welche bei *Chlorella* mit günstigem Culturerfolg untersucht waren, in Anwendung gebracht. Auch wurden die *Hydra*körper zuvor in sterilisirtem Wasser zerrieben und die Flüssigkeit dann entweder mit

Abthl. 1882, Heft I und II, p. 126. Zweiter Artikel: Mitth. aus der zool. Station zu Neapel, Bd. IV, S. 191, 1883.

[1]) Claude Bernard, Leçons sur les phénomènes de la vie, T. I, p. 213, Pl. p. 230. 1878.

[2]) *Hydra*. Eine anatomisch-entwicklungsgeschichtliche Untersuchung, S. 4, 1872.

der Gelatine gemischt, oder auf eine schon erstarrte Nährgelatineplatte ausgegossen. Alle diese Gelatineculturen, welche mit der nöthigen Ausdauer fortgesetzt sind, gaben ein durchaus negatives Resultat, — nach einiger Zeit sind die Chlorellen immer abgestorben. Zwar hatten einige ein oder zwei Zelltheilungen erfahren, allein aus einer sorgfältigen mikroskopischen Prüfung ergab sich, dass diese Theilung nur dann stattgefunden hatte, wenn noch lebendes thierisches Protoplasma mit den Chlorellen in Contact gewesen war, sobald dieses Protoplasma starb, ging auch das Leben der grünen Körper ein.

Ich versuchte ferner, die Zoochlorellen zu cultiviren in einem Strome Kohlensäure im Lichte. Ich bekleidete dazu das Innere einer beiderseits [illegible] verlaufenden Glasröhre mit einer dicken Gelatineschicht, auf welcher zerriebene Körper von *Hydra viridis* vertheilt wurden. Nach vielen Tagen sah ich noch keine fortgesetzten Theilungen. Da es schwierig ist, Kohlensäure sauerstofffrei zu machen, habe ich auch anaerobe Culturen in hohen Gelatineschichten in Reagensröhrchen angefertigt, auch dabei aber nichts besonders gesehen; allein ich versäumte diesen Culturen eine reichlich fliessende Kohlensäurequelle beizugeben.

Etwas näher bin ich meinem Zwecke, der isolirten Chlorellencultur, gekommen, als ich die Hydren in sterilisirtem Leitungswasser zerrieb und darin, bei Lichtzutritt, verweilen liess. Es zeigte sich dabei wenigstens, dass die Chlorellen durchaus nicht sofort im Waser absterben, wie es die wahren Chlorophyllkörner der höheren Pflanzen immer zu thun scheinen, sondern dass dieselben nach mehreren Wochen unter diesen Umständen stark anschwellen können. Darauf bezügliche Präparate findet man in *b,* Fig. 5 abgebildet. Wie man sieht, ist die schliesslich erreichte Grösse ausserordentlich verschieden und übertrifft alles das, was bei *Chlorella vulgaris* auch unter den verschiedensten Bedingungen beobachtet wurde. Das Ende aller Mühe war aber auch in diesem Falle der Tod. Irgend eine Spur von Theilung wurde in den freien Chlorellen im Wasser nicht beobachtet. Das Leitungswasser wurde durch sterilisirtes Grabenwasser mit und ohne Peptonzufügung ersetzt, doch ohne Erfolg: das peptonfreie Wasser verhielt sich wie Leitungswasser, das peptonführende verdarb bald durch die Bacterien. Es wurden nun, um letzteren Umstand zu beseitigen, Hydren auf peptonführende Nährgelatine in langen Impfstrichen zerrieben und sobald sich deutliche Stellen erkennen liessen, welche bacterienfrei blieben, die darin befindlichen Zoochlorellen mit der Platinnadel in peptonhaltiges Wasser gebracht. Alles war jedoch vergebens, die Zoochlorellen verweigerten bisher ausnahmslos sich ausserhalb der Thiere zu vermehren (vergl. Anmerkg. 1 auf S. 304).

Soeben sprach ich über die Bacterien, welche bei solchen Versuchen zum Vorschein treten; darüber noch Folgendes.

Die von mir zu den Culturversuchen zerriebenen Hydren hatte ich zuvor während längerer Zeit mit sterilisirtem Wasser abgewaschen, wozu dieselben zahlreiche Male in einem Uhrglase einem kräftigen Wasserstrahle ausgesetzt und dann zur Erneuerung mit einer Platinöse herausgenommen wurden. Wie lange ich aber auch spritzte und wusch, eine vollständige Entfernung der Bacterien konnte dadurch nicht erreicht werden, in den Impfstrichen sprossten immer zahlreiche Bacteriencolonien hervor, worunter sehr gewöhnlich ein gelbes, ein braunes, ein grünliches, ein rothes und ein sehr interessantes violettes Pigmentbacterium. Alle diese chromogenen Bacterien waren mir aber schon aus dem Wasser an sich bekannt geworden. Bei einer

solchen Untersuchung, wie diese, bekommt man erst recht die Ueberzeugung von der allgemeinen Verbreitung der lebenden Keime.

Interessanter wie die Bacterien waren die Algenculturen, welche in mehreren Fällen in den flüssigen Nährmedien schliesslich zur Entwicklung gelangten. In dieser Beziehung bemerkte ich in reinem Wasser einmal eine starke Vermehrung einer Diatomeenart, in zwei anderen Fällen entstanden interessante Reinculturen von *Raphidium polymorphum.* In peptonhaltigem Wasser vermehrten sich bei weiteren Versuchen mit zerriebenen Hydren einmal *Scenedesmus acutus,* ein anderes Mal *Raphidium minutum.*

Vergeblich versuchte ich die Diatomeen durch Gelatine zu isoliren[1]). Auch *Raphidium polymorphum* konnte ich in oder auf Culturgelatine oder Agar nicht zum Wachsen bringen. Die Cultur dieser Arten gelang nur, wie gesagt, in reinem Wasser und wurde, wenn nicht beeinträchtigt, auch sicher nicht durch die Gegenwart von Pepton gefördert. Ganz anders also, wie bei *Scenedesmus acutus,* womit *Raphidium minutum* wohl auch in Bezug auf die Isolirbarkeit durch die Gelatinemethode übereinstimmen dürfte.

Ist es möglich, so musste ich fragen, dass diese so verschiedenen Algen nur weiterentwickelte Stadien der Chlorellen sind? Entz hat es bekanntlich behauptet[2]) und Brandt hat diese Ansicht auffallenderweise zu der seinigen gemacht[3]), obschon er sehr bestimmt erklärt, bei längerer Verfolgung isolirter Zoochlorellen, von Infusorien und *Hydra,* nichts dergleichen gesehen zu haben. Um darüber zu entscheiden, untersuchte ich den in den genannten Algenculturen befindlichen Schleim, welcher aus den *Hydra*körpern übrig geblieben war, nachher mikroskopisch, und fand darin leicht die absterbenden Chlorellen auf, von Uebergangsstadien derselben zu den genannten Algen jedoch keine Spur. Ferner sah ich in einzelnen Fällen in frischen zerriebenen Hydren einzelne unverkennbare Exemplare von *Raphidium* und *Scenedesmus,* und konnte deren Weiterentwicklung direct in Glaskammern unter dem Mikroskope verfolgen. Diese Algen gehörten offenbar zu der zuletzt verschlungenen Beute und waren gänzlich unabhängig von den Chlorellen. Aehnliche Vorkommnisse müssen Entz offenbar irregeführt haben. Auch Bütschli's Beobachtungen an Infusorien stimmen mit den meinigen überein. Er sagt[4]): »Die unter dem Deckglase gezüchteten Zoochlorellen von *Frontonia leuca* zeigten nicht die geringste Neigung, sich zu Algen zu entwickeln (Schewiakoff, Bütschli).«

Ich will nun meine Wahrnehmungen an *Stentor polymorphus* folgen lassen.

Im Nachwinter und Frühjahr 1890 hatte ich sowohl die farblose wie die grüne Varietät dieses Thieres in jeder beliebigen Anzahl zu meiner Verfügung. Ich fand nämlich, dass der Grabenschlamm, von einem Graben neben meinem Laboratorium, sich bei ruhigem Stehen in eine klare Wasserschicht und einen, von Stentoren förm-

[1]) Auch mit anderen Süss- und Salzwasserdiatomeen sind meine Isolierungsversuche fehlgeschlagen.

[2]) Biologisches Centralblatt, Bd. I, S. 646, 1882. Entz erwähnt, er habe bei der Cultur isolierter grüner Körper verschiedener Infusorien die folgenden einzelligen Algen erhalten: *Palmella, Tetraspora, Gloeocystis, Pleurococcus, Raphidium, Scenedesmus, Chlamidomonas* und *Euglena.*

[3]) Zweiter Artikel, l. c. S. 192.

[4]) Bütschli, Protozoen, Abthl. III, S. 1836, 1889.

lich bedeckten Bodensatz trennte. Mit Glasröhren wurden die Thiere in reines Wasser gebracht und daraus mit Capillarröhrchen abgesondert, in neues Wasser gespritzt und das so lange wiederholt bis sie gänzlich rein waren. In filtrirtem Wasser konnte ich sowohl die farblosen wie die grünen Individuen zur Vermehrung bringen, aber Anfang Juni verschwanden die farblosen Thiere plötzlich sowohl aus dem Graben wie aus meinen Culturgefässen. Die grünen Exemplare im Graben verminderten sich zwar auch sehr, aber sie blieben noch in genügender Zahl übrig, und ihre Vermehrung dauerte dann auch in meinen Culturgläsern noch unvermindert fort. Im Ganzen war der Unterschied zwischen den grünen und farblosen Formen so gross, dass ich dieselben, ohne das Vorurtheil der specifischen Einheit, sicher für zwei verschiedene Arten würde gehalten haben.

Die Zoochlorellen von *Stentor* liegen in dem subcorticalen Protoplasma. Die Hautschicht, durch welche sie von dem umspülenden Wasser getrennt sind, besitzt nach innen eine sehr deutliche Begrenzung und die Dicke derselben ist nicht unansehnlich. Die Körner stimmen durch die Lage sowie durch die regelmässige, einschichtige Anordnung auffallend mit dem bei *Hydra* beschriebenen Verhalten überein. Von deren Einschliessung in Nahrungsvacuolen ist, wie ich kaum zu betonen brauche, nichts zu bemerken.

Die Culturversuche mit den *Stentorchlorellen* wurden auf genau dieselbe Weise ausgeführt, wie bei *Hydra*, und sie haben dasselbe negative Resultat gegeben, so dass ich dabei nicht länger verweilen will [1]).

Die farblosen Stentoren gaben mir aber zu einer anderen Versuchsreihe Veranlassung. Würde es möglich sein, dieselben durch Ernährung mit *Chlorella vulgaris* in die grüne Form überzuführen? Ich konnte diese Hoffnung mit einigem Rechte hegen, denn meine *Chlorella*culturen sind auch den Zoochlorellen von *Stentor* zum Verwechseln ähnlich.

Ich suspendirte desshalb eine genügende Anzahl Chlorellen in das Wasser der Culturgefässe, worin *Stentor* gut gedieh. Bald konnte ich bemerken, dass die Zellen aufgenommen wurden, denn die Thiere veränderten deutlich ihre Farbe und wurden local, allein nicht gleichmässig grün. Bei der mikroskopischen Untersuchung erfuhr ich sofort, dass hier von Zoochlorellenbildung überhaupt nicht die Rede sein konnte, denn die aufgenommenen grünen Zellen lagen in dichten Knäueln angehäuft in grossen Nahrungsvacuolen und von einer Verschiebung nach der subcorticalen Plasmaschicht, oder von irgend einer regelmässigen, derjenigen der echten Zoochlorellen ähnlichen Anordnung war keine Spur zu sehen. In diesem Zustande haben die Thiere lange fortgelebt, sich fortgepflanzt, und schliesslich sind sie als farblose Stentoren verendet.

Wenn bei diesen Versuchen die Zoochlorellenerzeugung gelungen wäre, so hätte ich bei der Beurtheilung des Resultates noch folgenden Umstand scharf ins Auge fassen müssen.

Bei der mikroskopischen Prüfung der Leibessubstanz einer grossen Anzahl frisch eingefangener, farbloser Stentorexemplare sah ich ausnahmslos in jedem Thiere eine

---

[1]) Die Körper der grünen Stentoren waren so zart, dass dieselben bei vorsichtigem Niederlegen mit einem Wassertropfen auf reine, erstarrte 10% Gelatine, sobald das Wasser durch die Gelatine absorbirt war, von selbst aufplatzten.

gewisse Zahl von Nahrungsvacuolen (α, Fig. 6*a*), worin sich in Theilung begriffene *Chlorella*zellen befanden, welche zwar zu einer anderen Species wie *Chlorella vulgaris* gehören dürften, deren Uebereinstimmung mit den wahren Zoochlorellen von grünen Stentoren jedoch gross war. Ich will diese Körperchen »Pseudochlorellen« nennen und muss betonen, dass, wenn es jemals gelingt, farblose Stentoren in grüne umzuwandeln, die Beobachter darauf achten müssen, ob es diese Pseudochlorellen sind, oder die als Nahrung verwendeten Algen, welche als Muttersubstanz für die Zoochlorellen fungiren.

Die Pseudochlorellen vermehren sich auf die gewöhnliche Weise. Nach der Zweitheilung des seitlichen Chromatophors bemerkt man zunächst eine tetraëdrische Anordnung der durch die dann folgende Theilung erzeugten vier Tochterzellen (*b*, Fig. 6). Mehr als vier Theilungsproducte innerhalb einer Mutterzelle sah ich nicht, dagegen war es leicht, in einzelnen Vacuolen bis zu 32 und mehr Pseudochlorellen zu zählen.

Ein einzelner Culturversuch auf Gelatine mit den Pseudochlorellen von *Stentor* war erfolglos. Mit reinem Wasser habe ich keine Erfahrungen zu verzeichnen.

Ehe ich die Betrachtung über *Stentor* schliesse, will ich noch bemerken, dass ich in den farblosen Thieren in einzelnen Fällen noch eine andere Alge, nämlich *Raphidium polymorphum* in Ernährungsvacuolen in Theilung angetroffen habe (β Fig. 6*a*), sodass beim Zerdrücken der Thiere unter dem Deckglase ganze Packete dieser zierlichen Alge in Freiheit gesetzt wurden. Auch diese Art erscheint desshalb als schwer durch das Protoplasma der Thiere angreifbar [1]).

Mit den sehr kleinen Zoochlorellen von *Spongilla fluviatilis* habe ich dreimal Culturversuche angestellt. Mein Material hatte ich theilweise selbst gesammelt an einem Fundorte bei Oosterbeek, anderntheils von Bolton aus Manchester bezogen. Schöne Pigmentbacterien aber keine Chlorellen sind die Frucht meiner Mühe gewesen. Da die Gemmen von *Spongilla* sich als frei von Zoochlorellen ergaben, so zweifle ich nicht, dass wenigstens in diesem Falle, eine directe Infection während des individuellen Lebens der Thiere stattfinden muss. Die sehr unregelmässige Anordnung und das öftere Fehlen der Chlorellen in den *Spongilla*zellen führt zu der Vermuthung, dass die Symbiose hier auf einer niederen Stufe der Vollkommenheit verkehrt, wie in den vorhergehenden Fällen, und, dass bei den in das gefärbte Entwicklungsstadium übergehenden Urahnen von *Hydra viridis* und *Stentor polymorphus* var. *viridis*, einmal eine Anordnung dagewesen sein dürfte, welche sich mit dem gegenwärtigen Verhalten von *Spongilla* vergleichen lässt.

Nach meiner Ansicht hat Brandt vollkommen Recht, wenn er die Chlorellen von *Spongilla* zu einer gesonderten Art bringt.

Es dürfte nicht überflüssig sein, bevor wir weitergehen, an dieser Stelle einen Rückblick zu werfen auf die durch die Culturversuche festgestellten Eigenschaften unserer Gattung *Chlorella*, sowie auf die dazu gebrachten Arten.

[1]) Mit denjenigen zerdrückten Körpertheilen von *Hydra* und *Stentor*, welche sich als frei von Mikroben ergaben, konnte ich keine Trypsin- und Diastasereactionen hervorrufen. Die sogenannte amöboide Ernährung findet, wie es scheint ausnahmslos, ohne Mithülfe von Enzymen statt. Ich würde in dieser Beziehung eine Reihe von Beispielen anführen können.

Chlorella: Einzellige grüne zu den Pleurococcaceen gehörige Algen, mit kugeligen, ellipsoidischen oder abgeplatteten Zellen von 1—6 μ Mittellinie, gewöhnlich mit nur einem Chromatophor von der Gestalt einer Kugelsegmentschale; Pyrenoid undeutlich oder fehlend. Im Lichte entsteht unter Sauerstoffentwicklung aus Kohlensäure Paramylum, welches sich mit Jod braun färbt. Zellkern meist einfach, bisweilen Zweizahl, von wechselnder Grösse, nur aus Chromatin bestehend. Die Vermehrung beruht auf freier Zellbildung durch successive Zweitheilung. Die Theilproducte kommen frei durch Platzen der Wand der Mutterzelle; sie können sehr verschieden sein in Grösse (½ bis 4 μ). Schwärmsporen fehlen vollständig. In süssem und salzigem Wasser, wahrscheinlich auch auf dem Lande.

Chlorella vulgaris. Zellen rund (2 bis 6 μ), frei lebend, niemals zu Familien verbunden. Reincultur auf Gelatine und in Peptonhaltigem Wasser gelungen. Wohl identisch mit *Chlorococcum protogenitum* Rabenhorst.

Ch. infusionum. Zellen kleiner (1 bis 4 μ), oft abgeplattet, selbst kurzcylindrisch. Lebt wie vorgehende Art. Isolierungsversuche nicht gelungen. Wohl identisch mit *Chlorococcum infusionum* Rabenhorst.

Ch. (Zoochlorella) parasitica Brandt. Chlorophyll von *Spongilla fluviatilis;* vielleicht identisch mit *Ch. infusionum* und wahrscheinlich während des individuellen Lebens durch *Spongilla* von aussen aufgenommen. Isolierungsversuche nicht gelungen.

Ch. (Zoochlorella) conductrix Brandt. Chlorophyll von *Hydra, Stentor, Paramaecium* und wahrscheinlich von vielen anderen grünen Thieren. Wohl entstanden aus *Ch. vulgaris,* von entfernten Urahnen der genannten Thiere aufgenommen. Isolierungsversuche nicht gelungen. (Vergl. Bemerkung 1 S. 304.)

Die bisher misslungenen Culturversuche mit den Zoochlorellen veranlassen mich, noch kurz die Gründe anzuführen, wesshalb ich doch fest überzeugt bin, dass hier ein Fall von Symbiose vorliegt, welcher sich nicht mit dem Vorkommen des Chlorophyllus bei den Pflanzen und Euglenen vergleichen lässt, deren Chromatophoren sich allmählich als gesonderte Organe des Protoplasma individualisirt haben, ähnlich wie es mit dem Zellkern geschehen sein muss. Bei dieser sowie bei verwandten Fragen ist die comparative Methode entscheidend. Diese lehrt uns, dass nicht Chlorellen allein, sondern auch andere Algen symbiotisch mit thierischen Geweben zusammenleben können, und dass dabei in manchen Fällen, bezüglich des Einwanderns der Algen aus der Umgebung überhaupt kein Zweifel möglich ist. So steht es z. B. für jeden Zoologen fest, dass die Zooxantellen [1]) fremde Eindringlinge sind. Für die höher organisierten Algen, z. B. für den *Chaetoceros,* welchen Famintzin als Symbiont zu *Tintinnus inquilinus* beschreibt, sowie für *Spongocladia vaucheriaeformis,* welche mit *Reniera fibulata* zusammenlebt [2]), muss dieses als selbstredend zugegeben werden.

---

[1]) Vergl. Brandt, Zweiter Artikel, l. c., sowie Famintzin, Beitrag zur Symbiose von Algen und Thieren. Mém. de l'Acad. d. sc. de St. Pétersbourg, T. 36, Nr. 1, p. 1, 1889.

[2]) Max Weber und A. Weber-van Bosse, Quelques nouveaux cas de symbiose, in: Zool. Ergebnisse einer Reise nach Ostindien, Heft I, pg. 39, 1890. Hier findet man auch die übrigen auf Spongien bezüglichen Fälle zusammengestellt.

Selbst in diesen klaren Fällen erscheint es durchaus nicht sicher, dass es gelingen würde, solche Algen ausserhalb der Thiere im freien Zustande zu cultiviren.

In der angeführten Abhandlung von Weber und Weber-van Bosse findet sich noch ein anderes, sehr überzeugendes Argument für die Fremdnatur, selbst der echten, grünen Zoochlorellen. Ich meine den merkwürdigen Fund von *Noctiluca miliaris*, im Bai von Bima, auf der Insel Sumbawa, dunkelgrün gefärbt durch wahre Chlorellen [1]. Dass diese allbekannten Lichtinfusorien ihre Chlorellen nur von aussen haben erhalten können, auch das wird wohl für Jedermann einleuchtend sein. Die Reisenden glaubten zuerst bläschenförmige Algen vor sich zu sehen, überzeugten sich aber bald von dem eigentlichen Sachverhalt. Sie bemerken, dass bei einer genauen Prüfung keine verdauten Zellen gefunden wurden und dass die Chlorellen im Protoplasma und nicht in den Vacuolen der Thiere liegen. Ich verdanke ihrer Güte ein Muster auf Spiritus von dieser ausserordentlichen Combination.

Auf die Behauptung, man könne mit demselben Rechte, womit der parasitäre Ursprung der Chlorellen vertheidigt wird, annehmen, die echten Chlorophyllkörper der Pflanzen seien in die Urahnen eingewanderte Algen, auf diese Behauptung muss ich entgegnen, dass die Chlorophyllkörner der höheren Pflanzen homolog sind mit den Chromatophoren der Chlorellen und nicht mit den Chlorellenzellen an sich [2], sodass, consequenter Weise, dann auch behauptet werden müsste, dass die Chromatophoren in die Zoochlorellen von aussen eingewandert sind. Das wird jedoch bei dem heutigen Stande unserer Kenntnis wohl niemand glauben. Das Beste nämlich, was wir gegenwärtig von den Chromatophoren wissen, rührt von Schmitz her [3], der zum Schlusse gekommen ist, dass diese Zellenorgane, phylogenetisch, als Theilproducte von Zellkernen entstanden sein dürften [4], und damit derweise übereinstimmen, dass die Pyrenoide homolog sind mit der Chromatinsubstanz oder den Nucleolen. Eine Parallelisirung der Chromatophoren mit vollständigen, kernhaltigen Zellen betrachte ich demzufolge als nicht durchführbar.

In Bezug auf das Misslingen der Zoochlorellencultur ausserhalb der thierischen Zellen ist es nicht schwierig, Analogien aufzuweisen. So habe ich gezeigt, dass die Bacteroiden der Papilionaceenknöllchen, welche sich nicht cultiviren lassen, doch sicher aus den in die Wurzelzellen eingewanderten Stäbchen von *Bacillus radicicola* entstehen, eine Bacterie, welche leicht in künstlichen Nährmassen fortzuzüchten ist.

VI.

Chlorosphaera limicola.

Bei Gelegenheit eines Culturversuches mit dem zerriebenen Körper einer *Hydra viridis*, welcher in einer 10-procentigen, mit 0,2 % Cohn'schen Nährsalzen [5] ge-

[1]) Symbiose du *Noctiluca miliaris* avec une Algue unicellulaire verte, l. c. p. 69.

[2]) Nur im Hypocotyl der Keimpflanzen von rothem Klee fand ich Chlorophyllkörner, welche nur theilweise gefärbt waren, doch konnte ich nicht daran zweifeln, dass die beiden Theile zusammen das Chromatophor vergegenwärtigen.

[3]) Die Chromatophoren der Algen, Bonn 1882.

[4]) Mir würde es richtiger scheinen, zu sagen: Die Chromatophoren sind umgewandelte Zellkerne vielkerniger Zellen.

[5]) Die Cohn'sche Mischung ist wegen der sauern Reaction besonders den Gelatine schmelzenden Bacterien ungünstig.

mischten, nachher erstarrten Gelatinelösung in Leitungswasser ausgeführt wurde, und wobei nur sehr wenig Bacterien zur Entwicklung gelangt waren, fand ich nach drei Wochen eine dunkelgrün gefärbte Colonie einer interessanten Alge [1]. Natürlich glaubte ich anfangs, ich hätte die weiter entwickelten Zoochlorellen vor Augen, allein weitere Erfahrungen widerlegten diese Ansicht. Ich lernte die nämliche Form bald als steten Bewohner des Schlammes stark verdorbener Gewässer kennen und bemerkte, dass dieselbe in hohem Maasse geeignet ist, anaërobiotisch zu leben, wodurch ich leicht imstande war, neue Reinculturen derselben zu erhalten.

Ich verfuhr dabei folgendermaassen.

Es wurde zu Grabenschlamm in tiefen Reagentienröhren etwas Indigoblau zugesetzt. Sobald dieses in der Tiefe durch die reducirenden Bacterien vollständig entfärbt war [2], wurden eben von dorther Gelatineculturen angefertigt. Bald kamen die grünen Colonien zum Vorschein.

Ueberhaupt ist diese *Chlorosphaera* die am leichtesten cultivirbare der von mir gezüchteten Algen. Die Lebensbedingungen derselben stimmen übrigens nahe überein, mit dem, was wir bei *Scenedesmus acutus* und *Chlorella vulgaris* gesehen haben. Das Bedürfniss an organischen Stoffen ist hier dasselbe wie dort; im Lichte und bei Kohlensäurezutritt ist Pepton allein (mit den nöthigen Phosphaten) zureichende Nahrung, — im Dunkeln ist Pepton mit Zucker ausgezeichnet. Auf geeigneter Nährgelatine wächst die Art ebenso reichlich, als ob sie eine gewöhnliche Bacterie wäre. Nur nach Monaten bemerkt man, dass die Colonien in die Gelatine etwas hineinsinken, infolge einer sehr schwachen tryptischen Wirkung, welche an Intensität nicht zu vergleichen ist mit derjenigen von *Scenedesmus acutus*. Diastase erzeugt unsere Art nicht; *Chlorella, Scenedesmus* und *Cystococcus* thun dieses ebensowenig. Gute Nährmassen sind z. B. die folgenden: 1. Leitungswasser mit 8% Gelatine, ½% Pepton und 1% Rohrzucker (oder anstatt Rohrzucker Glucose, Laevulose oder Maltose). 2. Malzextract erstarrt mit 8% Gelatine.

Zur Anfertigung durch *Chlorosphaera* intensiv grün gefärbter Flüssigkeiten verwendete ich auch hier eine 3-procentige Gelatinelösung, welche mit Pankreaspulver oder durch Bacterien peptonisirt und dann sterilisirt wurde. Fügte ich dann noch überdies einige Tropfen Malzextract hinzu, so wurde das Wachsthum überraschend gefördert.

In diesem Falle konnte ich nicht lange unsicher bleiben in Bezug auf das Bedürfniss an organischen Stoffen, denn in *Chlorosphaera* haben wir eine grüne Algengattung vor uns, welche eine saprophytische Lebensweise führen kann, wie z. B *Ch. Alismatis* Klebs [3], und deren nächste Verwandten grüne Parasiten lebender Pflanzen

---

[1]) Beschreibungen davon habe ich nicht auffinden können, allein ich zweifle nicht, dass viele Mikroskopiker die Art beobachtet haben müssen.

[2]) *Chlorosphaera* selbst verursacht keine Reduction, ebensowenig wie die übrigen von mir untersuchten Algen. Mir ist diese Function nur bei gewissen Bacterien bekannt geworden. Auch bei der Hefe fehlt sie vollständig. Für die Beurtheilung von Oxydationswirkungen im Substrat unter Einfluss von Mikroben, giebt es nicht solche empfindliche Reactive wie für die Reduction. Allein, ich glaube doch sicher behaupten zu können, dass auch keine meiner Algen das Substrat oxydirt.

[3]) Wille trennt die Chlorosphaeraceen als gesonderte Familie von seinen Protococcaceen; das scheint mir jedoch ungenügend begründet. In der Anreihung bei Klebs (Pfeffer's Untersuchungen, Bd. I, S. 343, 1881), welcher die Protococcaceen in [illegible]

sind, wie *Chlorochytrium*, oder ebenfalls als Saprophyten in abgestorbenen Pflanzentheilen vorkommen, wie *Endosphaera, Phyllobium, Scotinosphaera* [1]). Dass diese Algen an ihren Standorten Stoffe zur Ernährung vorfinden, von ähnlicher Zusammensetzung wie die Mischungsbestandtheile der Peptone, und selbst Zuckerarten, ist sicher, denn die zahllosen trypsinerzeugenden Wasserbacterien zersetzen unzweifelhaft die proteinartigen Körper absterbender Pflanzenzellen auf eine ähnliche Weise wie Pancreaspulver Gelatine und Eiweiss, und in nicht allzusehr verdorbenem Wasser finden sich immerhin diastatische Bacterien, welche aus dem Amylum der todten Pflanzentheile etwas Zucker zu bilden vermögen. Auch die Symbiose von *Anabaena* mit Cycadeenwurzeln und Gunerarhizomen, sowie diejenige von *Nostoc* mit *Blasia* und *Azolla* dürfte auf das Bedürfniss an organischen Stoffen seitens dieser Algen beruhen.

Die interessanteste Eigenschaft unserer *Chlorosphaera* besteht darin, dass sie sowohl auf der Nährgelatine wie in Culturflüssigkeit sehr leicht Schwärmsporen erzeugt (*b, c, d*, Fig. 3). Ehe wir diese besprechen, muss ein Wort über die ruhenden Zustände vorausgeschickt werden. In der ruhenden Zelle (Grösse 6 bis 12 μ) findet sich ein gekörnter, gleichmässig grün gefärbter Protoplast, dessen Chromatophor als geschlossene Blasen der Zellwand überall anliegt. Stets erblickt man im Chromatophor ein deutliches Pyrenoid [2]), woran ich jedoch keine Amylumhülle bemerkte, obschon die Wand des Pyrenoids sehr scharf contourirt ist. Viel schwieriger ist der Zellkern zu finden, welcher nahezu in der Mitte der Zelle liegt. Die Vermehrung beruht immer auf freier Zellbildung, welche innerhalb der zuletzt abgeworfenen Wand der Mutterzelle stattfindet. Die Producte der Theilung runden sich bald ab; im Ganzen kann deren Zahl innerhalb einer Zelle zu 32 bis 64 heransteigen. Bei sehr kräftiger Ernährung, z. B. auf concentrirter Malzextractgelatine, sind die neugebildeten Zellen unbeweglich (*f*, Fig. 3); sie erzeugen dann bei dem Weiterwachsen eine dicke, farblose Zellwand und infolge ihrer Anordnung eine Art Pseudoparenchym von schwarzgrüner Farbe. In reichhaltigen Nährflüssigkeiten entstehen leicht dunkelgrüne Membranen, welche die Glaswand der Gefässe an der Lichtseite bekleiden und einige Uebereinstimmung mit *Ulva* zeigen. Ueberraschend verschieden ist die Grösse, welche man bei den ruhenden Zellen beobachtet, und das zwar auf einer und derselben Nährgelatine. Fände man Algen von so wechselnden Dimensionen im Freien, so würde man Anstand nehmen, dieselben zu einer einzigen Art zu bringen. Man vergl. z. B. die normalen in *a*, Fig. 3 dargestellten grossen Zellen mit der kleinen ruhenden Zelle *e*. Selbst in den kleinsten Zellen lässt sich leicht das Pyrenoid erkennen.

Wenn die *Chlorosphaera* reichlich mit zuckerhaltigen Stoffen ernährt wird, so

---

lien auflöst, muss, nach meiner Ansicht, die von Wille aufgestellte Familie der Chlorosphaeraceen zu den Endosphaeraceen gebracht werden.

[1]) Klebs, Botan. Ztg. 1884, p. 249.

[2]) Reinsch (Beobachtungen über entophytische und entozoische Parasiten, Bot. Ztg. 1879, p. 24) bildet in seiner Fig. 3*a* so deutlich ein Pyrenoid ab in den grünen Algenzellen, welche er in den Tüpfelzellen von Sphagneen-Blättern aufgefunden hat, dass ich nicht daran zweifle, er habe eine *Chlorosphaera* vor sich gehabt. Er selbst glaubt, der Organismus könne *Chlorococcum infusionum* sein, er erwähnt dieses aber mit Zweifel.

findet man im Chlorophyll Stärkekörner (*g*, Fig. 2), welche sich mit Jod blau färben [1]). Eine bestimmte Lagerung dieser Körner mit Bezug auf das Pyrenoid sah ich nicht.

Betrachten wir jetzt die Schwärmsporen.

Die Entstehungsweise geschieht genau so, wie bei den ruhenden Zellen durch freie Zellbildung infolge successiver Zweitheilung. Jede Spore erhält ein Chromatophor, worin das Pyrenoid schon deutlich sichtbar ist. Am farblosen Ende befinden sich zwei Schwärmfäden, welche nur bei Anwendung homogener Immersion (ich benutzte $^1/_{12}$ Zeiss) direct sichtbar sind. Die Sporen sind sehr klein und von ungleicher Grösse. Die kleineren (*d*, Fig. 3) messen 2 bei 4 μ, die grösseren (*c*, Fig. 3) 3 bei 5 μ. Bisweilen sah ich kleine Schwärmer, welche mit ihren Schnabelenden verwachsen waren, übrigens konnte ich keine Copulation beobachten. Ob eine solche im Freien existirt, weiss ich nicht. Meine eigenen, nun schon überjährigen Culturen, veranlassen mich nicht daran zu glauben. In allen früher genannten Nährmassen, nur mit Ausnahme der concentrirteren, Malzextract haltigen, lassen sich immerfort Schwärmer in allen möglichen Entwicklungsstadien antreffen. Jede Spur der grünen Materie, wie dieselbe auf Nährgelatine entsteht, in reines Wasser gebracht, sendet nach allen Seiten zahlreiche Schwärmer hinaus, welche ihrerseits für neue Culturen verwendet werden können. Die Schwärmer finden sich also fertig ausgebildet und sehr reichlich auf der ziemlich trockenen Oberfläche der Gelatine, niemals aber in Copulation. Bei plasmolytischen Versuchen mit denselben sah ich zuerst die Beweglichkeit aufhören, und dann nachher erst die Formänderung eintreten; eine Wand konnte ich nicht erkennen. Die Leichtigkeit, womit man diese Schwärmer in grosser Anzahl und vollkommen rein erhalten kann, lassen dieselben als ein geeignetes Material erscheinen zur Ausführung mehrerer Versuche bezüglich des Einflusses der Imponderabilien, sowie von gelösten Körpern auf die Beweglichkeit grüner Organismen.

Da *Chlorosphaera* durch Structur und Lebensart vielfach an *Chlamidomonas pulvisculus* erinnert, und da letztere Art zwei contractile Vacuolen und einen Augenfleck besitzt, suchte ich diese Organe auch bei *Chlorosphaera*, allein vergebens. Die Uebereinstimmung dürfte desshalb wohl nur eine äusserliche sein, was auch damit stimmt, dass *Chlamidomonas* im erwachsenen Zustand durch zwei Schwärmer beweglich ist, was bei *Chlorosphaera*, wie wir gesehen, nicht der Fall ist. *Chlamidomonas* konnte auf Gelatine nicht cultivirt werden.

VII.

Die Gonidien von *Phiscia parietina*.

Da Bornet und Schwendener die Gonidien von *Physcia* mit *Cystococcus humicola* Nägeli identificirt haben, werde ich diesem Beispiele folgen, obschon ich betonen muss, dass Nägeli, nach meiner Ansicht, den letzteren Namen einer ganz anderen Algenart, welche zu *Chlorosphaera* oder *Endosphaera* gehört, gegeben hat [2]).

[1]) Echtes Amylum, welches sich mit Jod blau färbt, ist bei den niederen Algen und Thieren äusserst selten. Zu den letzteren gehört das farblose *Polytoma uvella*. Unter den Bacterien giebt es dagegen manche Arten, welche Granulose einschliessen.

[2]) Vergl. Gattungen einzelliger Algen, S. 81, 1849.

was schon daraus erhellt, dass das Pyrenoid in den *Physciagonidien* nicht zu sehen ist, während dasselbe in Nägeli's Abbildungen von *Cystococcus* überall deutlich hervortritt [1]). Uebrigens dürften in seiner Figur wenigstens zwei Algenarten zur Darstellung gelangt sein, denn seine Fig. 2, Taf. III, obere Hälfte, ist wohl identisch mit *Chlorella vulgaris*.

Das Isoliren der *Physciagonidien* hat mir anfangs viel Mühe gekostet, nämlich so lange ich noch nicht wusste, dass auch diese Alge organische Körper zu ihrer Ernährung verlangt. Ich gebrauchte desshalb im Anfange nur eine magere Ulmenrindegelatine, weil ich glaubte, nur eine geeignete Mischung der Nährsalze nöthig zu haben, und bekam dabei erst nach Monaten sehr dürftige Culturen. Als ich aber später dafür Malzextract in Anwendung brachte, waren die Schwierigkeiten bald überwunden, und seitdem besitze ich hübsche Vegetationen in verschiedenen Nährmassen.

Da ich in Bezug auf die als wirksam erkannten organischen Körper zu identischen Resultaten, wie bei *Chlorella*, *Chlorosphaera* und *Scenedesmus* gekommen bin, das heisst Peptone mit Zucker als die Hauptnährstoffe kennen lernte, so verweise ich für die Anfertigung der geeigneten Nährmischungen auf das bei jenen Arten Gesagte. Eine Schlussfolgerung, welche sich aus dem angeführten Sachverhalt ergiebt, ist diese: *Cystococcus* erhält von dem farblosen Wirthe Peptone und giebt diesem dafür Zucker zurück [2]). Die Lichenen müssen desshalb als Doppelparasiten betrachtet werden und sie können nicht einfach mit farblosen Schmarotzern auf grünen Pflanzen verglichen werden. Die Ernährungsoeconomie der Lichenen muss sich also wohl folgendermaassen verhalten: Der Ascomycet ist ein Ammon-Zuckerpilz (dass gewisse Ascomyceten ihren Stickstoff Ammonsalzen entlehnen können, weiss ich aus anderen Erfahrungen). Zucker und Ammonsalz erzeugen neben dem Pilzprotoplasma und innerhalb des letzteren Peptone, welche nach aussen diffundiren und zusammen mit Kohlensäure das Wachsthum und die Zuckerbildung von *Cystococcus humicola* ermöglichen.

Ich will noch betonen, dass sich diese Ansicht erst ganz allmählich bei mir zu einer Ueberzeugung ausgebildet hat und die Frucht ist zahlreicher vergeblicher Versuche, um meine Gonidienculturen mit Ammon- oder Nitratstickstoff (und Zucker) zu ernähren. Erst als ich diese Versuche aufgab und Peptone als Stickstoffquelle darbot, konnte ein merkliches Wachsthum erreicht werden. Ich glaube, dass diese meine Ansicht nicht sofort von jedem Botaniker wird getheilt werden, weil unsere bisherige Auffassung über die Ernährung der grünen Pflanzen damit nicht in Uebereinstimmung ist. Auch giebt es viele Arten, selbst aus den Verwandtschaftskreisen der genannten organischer Körper bedürftigen Algen, wie z. B. *Raphidium polymorphum*, die Diatomeen etc., welche, wie ich früher schon betonte, sich ganz sicher

---

[1]) Zu vergleichen meine Anmerkung 3, S. 318.

[2]) In dieser Gegend ist *Cystococcus*, ausserhalb der Lichenen, durchaus nicht so allgemein zu finden, wie man auf Grund der Litteratur würde erwarten können. So besteht der grüne Beschlag auf Ulmenrinde, an Brettern und ähnlichen Stellen, so weit ich gesehen habe, beinahe ausschliesslich aus *Pleurococcus vulgaris*. Viel seltener fand ich darin ein *Stichococcus* und Schwärmer von mir unbekannten Arten. Ich betrachte es als sicher, dass frei lebende *Cystococcus*zellen auch an die Gegenwart von Peptonen gebunden sind.

nach dem herkömmlichen Schema verhalten. Ich hoffe desshalb, dass meine Versuche wiederholt werden sollen: das Einzige, was dafür nothwendig ist, ist bacteriologische Erfahrung und Geduld. Man muss sich bei dergleichen lange andauernden Culturen, allererst von den Bacterien, welche selbst im Innern der Thalluslappen in ungeheuren Zahlen gegenwärtig sein können[1]), unabhängig zu machen wissen. Ich bin dabei folgendermaassen verfahren.

Mitten im Winter wurden *Physcia*rasen von Ulmenrinde genommen und davon feine Thallusschnitte angefertigt. Diese wurden sehr genau mikroskopisch untersucht, denn es kam mir darauf an, sicher zu wissen, dass keine fremden Algen, ausser den Gonidien, gegenwärtig waren, und *Hydra viridis* hatte mich gelehrt, wie schwierig es ist, einzelne fremde Algenzellen unter zahlreichen identischen einer anderen, ähnlichen Art, zu erkennen.

Die richtigen Schnitte wurden sorgfältig mit sterilisirtem Wasser gereinigt, um die anhängenden Bacterien soviel wie möglich zu entfernen, und dann mit einer Nadel auf eine dicke Gelatineschicht, welche nur sehr wenig Nährstoffe enthielt, z. B. auf 10% Gelatine in Grabenwasser gelöst, in eine Glasdose mit aufgeschliffenem Deckel übergetragen. Die Schnitte wurden dann und wann genau mit der Loupe untersucht, und sobald sich daran Bacteriencolonien oder Schimmelrasen zeigten, wurden dieselben mit einem Platinspatel zu gleicher Zeit mit einem Stück Gelatine, woran sie hafteten, entfernt. Einzelne Präparate wurden auf diese Weise frei von fremden Mikroben gefunden. Diese wurden nun auf eine gute Nährgelatine übertragen. Wären die Schnitte alle sofort auf den guten Boden gelegt, so würden die fremden Pilze bald das Ganze verdorben haben. Wie gesagt war ein verdünntes Malzextract, erstarrt mit 10% Gelatine, als eine solche gute Nährmasse erkannt. Die Schnitte wurden auf der weichen Unterlage mit zwei sterilisirten Nadeln auseinandergezogen und über die Oberfläche der Gelatine gerieben und ausgebreitet. Nach wenigen Tagen waren überall kleine, grüne Colonien sichtbar geworden, welche nun leicht in Reagentienröhren übergebracht und von da an in Reihenculturen fortgezüchtet werden konnten. Auch die Mycelfäden waren dabei zu kleinen greisen, nicht verflüssigenden Rasen mit einem sehr langsamen Wachsthum ausgewachsen; es ist mir jedoch nicht gelungen, auf Gelatineplatten aus den beiden Componenten *Physcia parietina* zu reconstruiren[2]). Auf Steinstücke habe ich bisher keine Aussaaten gemacht.

Wenn ich nun zur Betrachtung der morphologischen Verhältnisse von den *Physcia*gonidien übergehe, so muss ich anfangen zu sagen, dass ich der sehr guten

---

[1]) Diese Bacterien gehörten meist zu einer einzigen braun gefärbten Art.

[2]) Da es mir bei diesen Versuchen nur um die Gonidien zu thun war, habe ich dem Mycel nur beiläufig Aufmerksamkeit geschenkt. Die Möglichkeit besteht, dass ein fremder Pilz im Thallus eingedrungen war, und in meinen Platten zu einer Täuschung Veranlassung gegeben hat. Zwar theilten die in den Mycelknäueln eingeschlossenen Gonidien sich reichlich, allein es misslang, auf die nämliche Nährgelatine, worauf das Mycel kräftig wuchs, die Sporen von *Physcia* zur Auskeimung zu bringen.

Ich will bei dieser Gelegenheit bemerken, dass es keine geeignetere Methode giebt, um reines Sporenmaterial von Lichenen und anderen Pilzen zu bekommen, wie die Gelatinemethode.

Eine Gelatineschicht, welche je nach Umständen gefärbt oder mit irgend einem Körper getrübt oder opalisirend gemacht worden ist, derweise, dass die Sporen gut contrastiren können, wird in eine Glasdose gegossen und nach dem Erstarren der be-

Darstellung von Famintzin und Baranetzky[1]) nur wenig beizufügen habe. Die Autoren macerirten den Thallus von *Physcia parietina* in einem Wasserstrom, um das Pilzmycel zum Zerfall zu bringen, und cultivirten die Gonidien dann auf Ulmenrinde[2]). Ist diese Methode eine wissenschaftliche? Nach unserer gegenwärtigen Erfahrung über die allgemeine Verbreitung der Mikroben und die durchgreifenden Fürsorgen, welche die Culturen derselben deshalb erheischen, wird man darüber verschiedener Ansicht sein können. Ich hebe dieses hervor, weil Baranetzky Kützing vorwirft, seine mikroskopischen Wahrnehmungen, nach welchen die Gonidien von *Parmelia* niemals in *Parmelia* selbst übergehen[3]), beanspruchen keinen wissenschaftlichen Werth. Ich kann Baranetzky in dieser seiner Beurtheilung nicht folgen. Wer mit Ueberzeugung eine Wahrheit ausspricht, trägt zur Wissenschaft bei, auch dann, wenn er nicht bekannt ist mit einem Fehler, den er hätte machen können, allein nicht gemacht hat. So Kützing, und so Famintzin und Baranetzky selbst.

In Bezug auf die Abbildungen unserer Autoren muss ich bemerken, dass ihre Fig. 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 auch nach meiner Ansicht sicher zu den Gonidien von *Physcia* gehören, dass ich dagegen in dieser Beziehung weniger sicher bin, bezüglich ihrer Abbildungen 1—6; besonders ihre Figur 1, worin man ein Pyrenoid oder einen Kern, und eine seitliche Vacuole gezeichnet findet, stimmt nicht mit meinen Beobachtungen. Denn meine Gonidien[4]), sind eben von anderen niederen Algen, z. B. von *Chlorosphaera*, sofort zu unterscheiden, dadurch, dass sie überhaupt keine Vacuole und nur sehr schwierig einen Zellkern und kein Pyrenoid erkennen lassen[5]). Uebrigens sind die Gonidien leicht kenntlich an der grünen Färbung des grobkörnigen Protoplasmas, welche im Centrum der Zelle viel intensiver ist, wie an der Peripherie, sodass hier das Chromatophor offenbar entweder nicht der Wand anliegt, sondern central ist, oder die Zellen ganz anfüllt.

In meiner Figur 4 *a*, sieht man 8 Gonidien, welche infolge successiver Zweitheilung einer Mutterzelle in einer Nährlösung (3% Gelatine in Leitungswasser mit

zügliche Pilz an eine Nadel und diese an einen Kork, welcher am Deckel der Dose verklebt ist, gestochen. Der freihängende Pilzkörper streut die Sporen auf die Gelatineoberfläche. Die *Physcia*sporen können darauf mit einer zehnfach vergrössernden Loupe erkannt werden.

[1]) Zur Entwicklungsgeschichte der Gonidien und Zoosporenbildung der Flechten. Mém. de l'Acad. de St. Pétersbourg, T. II, Nr. 9, p. 1, 1867.

Baranetzky, Beitrag z. selbstständigen Leben der Flechtengonidien. Bull. de l'Acad. de St. Pétersbourg, T. 12, p. 418, 1868.

[2]) Baranetzky untersuchte auch die Gonidien von *Collema pulposum* Ach., welche, auf fest gepresste Erde ausgesäet, *Nostoc vesicarium* DC. erzeugten, und diejenigen von *Peltigera canina*, welche ebenso behandelt, eine phycochromhaltige Alge, *Polycoccus punctiformis* Ktzg. hervorbrachten. Meine Versuche, *Peltigera*gonidien zu cultiviren, sind misslungen.

[3]) Linnaea, 1835, p. 335.

[4]) Man vergl. auch die sehr schönen Figuren von Bornet, Gonidies des Lichens Ann. des sc. nat. Bot., T. 17, 1873.

[5]) Nachträgliche Bemerkung. Baranetzky's Beobachtungen sind vollständig richtig. Seitliche Vacuole und Zellkern können aber gänzlich unsichtbar werden; gegenwärtig finde auch ich dieselben in manchen meiner Culturen mit grösster Leichtigkeit (Vergl. auch Schwendener, Flechtenthallus, in Nägeli's Beiträgen, Heft IV, S. 108, 1868).

$^{1}/_{10}$% Pancreaspulver gelost und die Lösung sterilisiert) eine achtzählige Familie bilden. Die Zellen haben sich in zwei Reihen gestellt, alle hangen langere Zeit zusammen. Links von *a* sieht man 3 noch vereinigte Gonidien, welche durch weniger regelmässige Zweitheilung aus einer Zelle entstanden sind. Bei *b* die Zwischenstadien. Die abgestreifte Zellwand (*c*, Fig. 4) zeigt mit Chlorzink-Jod Cellulosereaction.

In den Nährlosungen habe ich niemals andere wie solche ruhende Zellen oder Zellfamilien gefunden; Schwärmer sah ich darin nimmer. Um diese zu erhalten, muss man Gelatineculturen anfertigen, am besten solche mit nur sehr wenig organischer Substanz; inzwischen fand ich auf allen untersuchten Unterlagen einzelne ausschwärmende Zellen, nur mit Ausnahme der concentrirtereren Malzextractgelatinen, wo das Wachsthum übrigens sehr üppig war. Ich fand aber stets, selbst unter den günstigsten Umständen, wie gesagt, nur vereinzelte Zellen, welche ausschwarmten, die meisten erzeugten bei der Theilung ruhende Tochterzellen, wie in den flussigen Medien, ganz anders also wie bei *Chlorosphaera*, wo jede Zelle schwarmt.

Die normalen Schwärmer (*d*, Fig. 4) sind denjenigen von *Chlorosphaera* sehr ähnlich. Sie besitzen zwei Schwärmfäden; das farblose Vorderende lasst keinen Augenfleck erkennen. Die Grösse ist nicht immer dieselbe. Makro- und Mikrogonidien suchte ich aber ebenso vergebens, wie Copulationserscheinungen. Der Chlorophyllkörper ist einfach.

Die Entstehung der Schwärmer bei der Theilung scheint oft mit Schwierigkeiten verbunden zu sein, wodurch Theilproducte entstehen von einer sehr verschiedenen Gestalt und Structur, welche Licht auf die Entstehung der Schwärmfäden werfen.

Man sieht nämlich beim Zerdrücken unter dem Deckglase von schwärmerführenden Zellen, welche aber nicht von selbst ihren Inhalt entleert haben, Schwarmer hervortreten mit abweichenden Eigenschaften. So kann die Grösse und Form sehr verschieden sein, die Schwärmfäden können fehlen, der Chlorophyllkörper kann fehlen, und was uns hier am meisten interessiert, die Schwarmfäden können ausserordentlich fremdartig gestaltet, stark angeschwollen sein und dann keinen Zweifel ubrig lassen, dass sie aus Protoplasma aufgebaut sind. In letzterer Beziehung verweise ich auf die Fig. *e*, *f*, *g*, Fig. 4. Bei *e* sieht man Schwarmer, wovon der eine zwei, der andere nur einen keulenförmig angeschwollenen Schwarmfaden besitzt. In dem einen dieser Schwärmer ist das Chromatophor zu zwei getheilt. Die Figuren *e*, *f* und *g* sind noch eigenthümlicher, insoweit dabei die stark angeschwollenen Geisseln ihr autonomes Leben als Protoplasten in einer selbstandigen Bewegung äussern. Die Spitzen der Geisseln sind in diesem Falle stärk angeschwollen, und diese Verdickungen besitzen das Bestreben, sich von dem eigentlichen Körper des Schwärmers zu entfernen, wobei der dünne Verbindungsfaden zuerst gespannt, schliesslich gesprengt werden kann. Dadurch in Freiheit gestellt, sieht man dann die kleinen vollständig farblosen Protoplasmakorperchen (*h*, Fig. 6), frei umherschwimmen. Was aus diesen Bildungen entstehen kann, weiss ich nicht, ich glaube, dass sie bald absterben.

Nachschrift.

Die von mir S. 304, Anm. I angeführte gelungene Cultur der *Hydrachl*orellen hat bei weiteren Versuchen, zum Schlusse geführt, dass das *Hydrachl*[illegible] [illegible]

identisch ist mit *Chlorella vulgaris*. Die anfängliche Culturschwierigkeit jenes Chlorophylls bleibt einstweilen unverstanden, in den Reihenculturen ist dieselbe bald verschwunden, und damit die einzelne Differenz mit letztgenannter Alge.

Figurenerklärung.

Fig. 1 (800). *Scenedesmus acutus* Meyen.
a. Lose herumtreibende Individuen in Wasser mit sehr wenig organischen Stoffen cultivirt.
b. Zellfamilien in sehr verdünnter organischer Nährlösung zusammengesetzt aus Gelatine mit Pancreaspulver verflüssigt.
d. Zelltheilung und Zellformen auf Malzextractgelatine.
e. Stichcultur in Grabenwasser-Gelatine. Die Zellen erzeugen ein Gelatine verflüssigendes Enzym.

Fig. 2 (800). *Chlorella vulgaris* n. s.
a. Cultur auf Malzextractgelatine.
b. Culturen in Wasser mit durch Pancreas oder durch Bacterien verflüssigter Gelatine.
c und *d* Die freie Zelltheilung, *d* innerhalb Gelatine, *c* in Nährlösung.

Fig. 3. (800). *Chlorosphaera limicola* n. s.
a. Gewöhnliche Zellform in Wasser nur mit Spuren organischer Nahrung.
b. Schwärmerbildung unter den Bedingungen *a.*
c. Grosse Schwärmer.
d. Kleine Schwärmer.
e. Ruhende Zellen, durch Theilung entstanden.
f. Zelltheilung und »Pseudoparenchym« auf Malzextractgelatine.
g. Zellen mit durch Jod sich blau färbendem Amylum auf Rohrzucker-Pepton-Gelatine im Dunkeln.

Fig. 4. (800). *Cystococcus humicola* Nägeli, Gonidien von *Physcia parietina.*
a. Wachsthum in Wasser mit organischer Nahrung. Rechts eine »achtzählige Familie«.
b. Die Entstehung ruhender Zellen auf Malzextractgelatine.
c. Zellgruppe wie *b*, aus der Zellwand der Mutterzelle herausgetreten.
d. Schwärmer auf Ulmendecoctgelatine.
e, f, g. Zur Entstehung der Schwärmfäden.
h. Schwärmer ohne Geissel und ohne Chlorophyll.

Fig. 5. (800). *Chlorella (Zoochlorella) conductrix* Brandt aus *Hydra viridis.*
a. Form und Theilung der Chlorellen im Thierkörper.
b. Angeschwollene Chlorellen in den Wasserculturen.
c. Rothe Pigmentkörner durch Metamorphose von Chlorellen in *Hydra*zellen entstanden.
d. (500). Optischer Längsschnitt durch die Spitze eines Armes von *Hydra viridis.* Die Chlorellen liegen auf der Aussenseite der Entodermzellen. In den Ektodermzellen liegen Nesselkapseln, wovon eine ausgeschnellt. Zwischen den Ektodermzellen liegen die »Drüsenzellen«.
e. Entodermzelle aus *d* mit Chlorellen und rothen Pigmentkörnern.
f. Einige Entodermzellen, worunter einzelne von den Chlorellen verdaute, deren Ueberbleibsel als rothe Körner in den »Nahrungsvacuolen« sichtbar sind.

Fig. 6. (150). *Stentor polymorphus* mit Pseudochlorellen.
a. Das Thier mit Nahrungsvacuolen, wovon einige (α) Pseudochlorellen enthalten, eine andere (β) *Raphidium polymorphum.*
b. (800). Vereinzelte und sich theilende Pseudochlorellen.

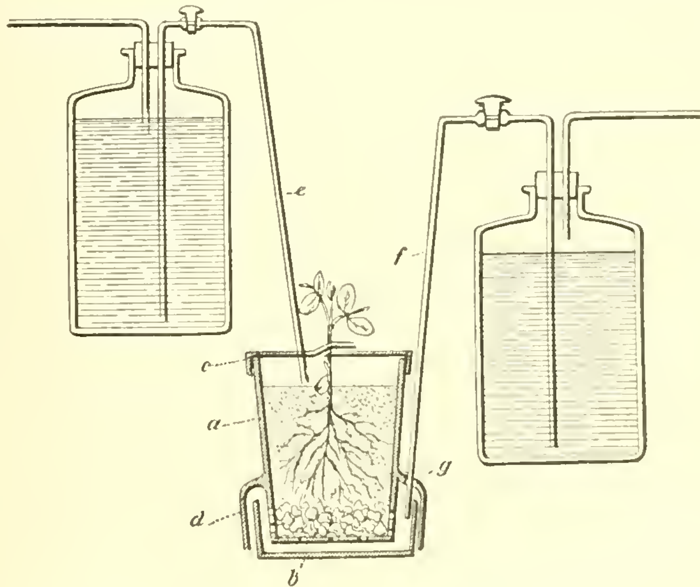

Fig. 3.
a.
b.
c.
d
f.
g.
c.
a.
b.
c
Fig. 1.
c.
d.
d.
a.
c.
Fig. 4.
a.
b.
c.
e.
h
f.
g.
Fig. 6
a.
α
β
b.
f.
b.
a.
e.
c.
d
Fig. 5.
b.
a.
c.
Fig. 2.
d.

Künstliche Infection von Vicia Faba mit Bacillus radicicola.

Ernährungsbedingungen dieser Bacterie[1]).

Botanische Zeitung, Leipzig, 48. Jahrgang, 1890, S. 837—843. — Verscheen gedeeltelijk en zonder figuur onder den titel: »Kunstmatige infectie van Vicia Faba met Bacillus radicicola« in Verslagen en Mededeelingen der Kon. Akademie van Wetenschappen. Amsterdam, Afd. Natuurkunde, 3e Reeks, Deel VIII, 1891, blz. 33—35.

Um zu entscheiden, inwieweit die aus den Knöllchen von *Vicia Faba* gezüchteten Bacterien im Stande sind, an steril cultivirten *Faba*pflanzen Knöllchen zu erzeugen, und welchen Einfluss das Fehlen oder die Gegenwart stickstoffhaltiger Nährstoffe auf die Entstehung derselben ausübt, wurden die folgenden Versuche ausgeführt.



Culturtopf mit Saughebervorrichtungen zum Begiessen.

Der innerlich glasirte Topf *a* ist mit Sand angefüllt, welcher auf Kieselsteinen ruht. Die Löcher unten im Topf sind mit Glaswolle verschlossen. *b* Kübel, worin der Topf ruht; *d* Kragen, um den Kubel *b* staubfrei zu erhalten; *f* Glasröhre zum Begiessen, welche durch ein mit Baumwolle verschlossenes Loch *g* des Kragens in den Kübel *b* hinabreicht. Der aus zwei übereinander greifenden Stucken bestehende Deckel *c* hat in der Mitte ein weites, mit Baumwolle abgeschlossenes Loch (nicht harcirter Theil), wodurch die *Faba*pflanze und die zweite Röhre zum Begiessen reichen. Die Luftzutrittsrohren der Wasserflaschen waren mit Baumwolle verschlossen. Das Uebrige ergiebt sich aus der Figur von selbst.

[1]) Nach einem Vortrage, am 28. Juni 1890 gehalten in der Akad. d. Wissensch. zu Amsterdam.

In Blumentöpfen von besonderer Construction (siehe Holzschnitt und Erklärung), welche innerlich glasirt waren, und ohne Gefahr für Infection begossen werden konnten, wurde reiner, lange mit destillirtem Wasser geschlemmter und gewaschener Flusssand gegeben und nachher die mit Sand angefüllten Töpfe in einem grossen Dampfsterilisator bei 3½ Atmosphären sterilisirt. Ein Dutzend solcher Töpfe wurde in vier Gruppen, jede von drei Stück vertheilt.

In jeden Topf wurde ein sorgfältig sterilisirter Samen von *Vicia Faba* gesäet, nachdem diese Samen auf einer Gelatineschicht zur Entwicklung gebracht und nur dann für den Versuch geeignet geurtheilt wurden, wenn bei der Keimung derselben überhaupt keine Bacterien oder Schimmel auf die Gelatine zur Beobachtung kamen. Das Sterilisiren hatte stattgefunden durch wiederholtes Waschen der trockenen Samen mit Alcohol und Abbrennen der anhängenden Flüssigkeit, oder durch rauchende Salzsäure, welche mit Natronlauge neutralisirt wurde.

Die vier Topfgruppen wurden vor einem Fenster im Laboratorium aufgestellt und begossen mit den folgenden, nach Hellriegel's Vorschrift [1]) angefertigten, sterilisirten Salzlösungen.

Die erste Gruppe: Mit destillirtem Wasser worin pro Liter in Grammen

0,1 Kaliummonophosphat

0,03 Chlorcalcium

0,06 Magnesiumsulfat.

Die zweite Gruppe: Mit der nämlichen Mischung.

Die dritte Gruppe: Mit der nämlichen Mischung unter Zufügung von 0,2 gr Calciumnitrat.

Die vierte Gruppe: Mit der nämlichen Mischung wie die erste Gruppe mit Hinzufügung von 0,2 gr Ammonsulfat.

Die Versuche begannen am 2. April. Als alle Pflanzen das zweite Blatt erzeugt hatten, wurde aus jeder der Gruppen 2, 3 und 4 ein Topf gewählt, und mit einer in sterilisirtem Leitungswasser aufgeschlemmten Cultur von *Bacillus radicicola* var. *Fabae*, welche in 1889 aus *Faba*knöllchen isolirt war, inficirt. Die drei Töpfe von Gruppe 1 wurden alle auf diese Weise inficirt.

Die Wurzelbacillen hatten den ganzen Winter 1889—90 sehr üppig gewachsen auf Nährgelatine von nachfolgender Zusammenstellung: Ein mit 8% Gelatine erstarrter Absud von frischen *Faba*stengeln mit 1% Rohrzucker, ½% Pepton siccum und ¼% Asparagin.

Ein weisser halbflüssiger Bacterienschleim mit zahllosen Schwärmern, und noch mehr abgestorbenen Stäbchen und einzelnen Bacteroiden und »Sternen« [2]) stand dadurch reichlich für die Infection zur Verfügung.

Es wurde dabei nur eine Hälfte des Deckels jeden Topfes abgenommen und die aufgeschlemmten Bacterien einfach auf die Oberfläche des Sandes gegossen, jedoch derweise, dass die Flüssigkeit den Stengel der jungen Pflanzen benetzte und diesen folgend, die Wurzeln erreichen konnte.

---

[1]) Untersuchungen über die Stickstoffernährung der Gramineen und Leguminosen. Berlin, Kayssler & Co., 1888.

[2]) Diese »Sterne« entstehen auf ähnliche Weise wie die Rasen von *Actinomyces* womit die Wurzelbacterien wohl verwandt sind.

Am 20. Juni bemerkte ich auf einem der alten Samenlappen einen Schimmelrasen, weshalb der Versuch beendet wurde.

Das Resultat war nicht zweideutig. Die Wurzeln der sechs mit *Bacillus radicicola* inficirten Pflanzen trugen zahlreiche Knöllchen, alle übrigen Pflanzen waren davon vollständig frei. Die Gegenwart oder das Fehlen von Calciumnitrat und Ammonsulfat war auf die Infection ohne Einfluss geblieben.

Aus der Distribution der Knöllchen an den Wurzeln konnte die Seite des Topfes, auf welcher das Begiessen mit den Bacterien stattgefunden hatte, erkannt werden. Offenbar hatten viele Schwärmer durch eine ziemlich dicke Sandschicht vertical nach unten einen Weg finden müssen.

Ich ergreife diese Gelegenheit, um kurz über einige neuere Versuche bezüglich der Ernährung unserer Bacterien zu berichten. Dieses ist um so nothwendiger, weil ich zweifelhaft geworden bin bezüglich der Identität von *B. radicicola* mit den Organismen der »Bacterienerschöpfung« der Knöllchen, welche letzteren ich desshalb von diesen Betrachtungen ausschliesse.

Zuerst wünsche ich darauf hinzuweisen, dass genaue bacteriologische Untersuchungen, angeregt durch Hellriegel's Beobachtungen, wie früher lehrten, dass *Bacillus radicicola* in den Geweben von *Vicia Faba* nicht vorkommt, ausserhalb derjenigen Stellen, wo Bacteroiden gefunden werden und worüber ich schon berichtet habe. Von einer allgemeinen Durchdringung der ganzen Pflanze mit den Wurzelbacillen kann desshalb nicht die Rede sein.

Bezüglich der Ernährung von *Bacillus radicicola* var. *Fabae* wurde dann folgendes festgestellt. In Uebereinstimmung mit meinen früheren Angaben wurde aufs Neue erhärtet, dass auf Agar-Agar, worin sich nur Salze mit Rohrzucker gelöst vorfinden, das Wachsthum stille steht, sobald die geringe Quantität assimilirbaren Stickstoffs daraus verbraucht ist.

Die Bindung des freien atmosphärischen Stickstoffs seitens der Wurzelbacillen findet desshalb unter diesen Umständen, das heisst ausserhalb der Papilionaceenpflanze und bei Zimmertemperatur zwischen 10° und 20° C. nicht statt. Auch nach vielen Monaten konnte in diesem Sachverhalt keine Veränderung bemerkt werden.

Allein wir finden hier das Vermögen, und das wusste ich früher nicht, die geringsten Spuren gebundenen Stickstoffs, sei es als Nitrat, Ammonsalz, als Pepton oder Amid, bei Gegenwart gewisser Kohlenhydrate, besonders von Rohrzucker, festzulegen als Körpersubstanz[1]). Ich konnte dieses dadurch beweisen, dass ich die Bacillen in Kjeldahl'schen Kölbchen, welche mit einer Nährlösung beschickt waren, cultivirte und dann später nach Kjeldahl's Verfahren den Stickstoff bestimmte. Als Nährlösung wählte ich eine 2% Rohrzuckerlösung in destillirtem Wasser, woran $^1/_{12}$% Kaliummonophosphat, $^1/_{50}$% Chlorcalcium u. $^1/_{25}$% Magnesiumsulfat zugefügt waren. Obschon darin ein sehr erhebliches Wachsthum stattfindet, wobei eine Bacterienschicht am Boden und an der Wand des Kölbchens entsteht, sowie viele Bacterienflöckchen in Suspension mit meistens unbeweglichen Einzelbacterien und nur wenigen Schwärmern, »Sternen« und Bacteroiden, so konnte doch weder vor noch nach dem Culturversuche Ammonbildung nachgewiesen werden.

---

[1]) Weitaus die beste Nahrung ist Pepton mit einem Kohlenhydrat, sodass z. B. verdünnter Malzextract eine vorzügliche Culturflüssigkeit darstellt.

Hiermit in Uebereinstimmung stand das Wachsthum denn auch bald stille, um wieder, solange noch Zucker disponibel war, kräftig zu werden bei Zufügung irgend einer Spur Pepton, Asparagin, Salpeter oder Ammonsulfat[1]).

Wurde das destillirte Wasser durch Leitungswasser ersetzt, so war das Wachsthum immer viel ansehnlicher, offenbar in Uebereinstimmung mit dem Gehalt desselben an gebundenem Stickstoff. Auch konnte die neugebildete Bacterienmasse noch erhöht werden dadurch, dass der Gehalt an Rohrzucker in den Nährlösungen erhöht wurde, z. B. bis auf 5%, während doch 2% schon weit mehr war, als dem Verbrauch an Stickstoff entsprach, sodass auch dabei den, dem Rohrzucker als Verunreinigung anhängenden Stickstoffverbindungen die Hauptrolle zukam. Die Vegetationen waren unter diesen Umständen so üppig, dass ich mit voller Sicherheit darauf rechnete bei der Verbrennung mit Schwefelsäure von 100 cc einer solchen Cultur Ammon finden zu sollen: Allein auch hier war der Stickstoffgehalt so gering, das derselbe nicht titrirt werden konnte.

Die *Faba*bacillen sind nach alledem zwar ein ausserordentlich feines Reactiv auf minimale Spuren von Stickstoffverbindungen; den freien Stickstoff binden dieselben bei den angeführten Versuchsbedingungen jedoch nicht.

Die Bindung solcher verschwindend geringen Nitrat- und Ammonmengen bei Gegenwart von Rohrzucker war mir, wie gesagt, bei der Abfassung meiner ersten Abhandlung über die Wurzelbacillen[2]) noch unbekannt. Die Erscheinung der Symbiose tritt dadurch aber in ein neues Licht. In den Knöllchen häuft *Bacillus radicicola* die letzten Spuren gebundenen Stickstoffs seines Ernährungsmediums, bei Gegenwart aus der Pflanze zufliessender Kohlenhydrate, als Reserveeiweiss an, und giebt dabei zu gleicher Zeit Veranlassung zu einer sehr vollständigen Erschöpfung der nächsten Umgebung an gebundenem Stickstoff. Eben dieser letztere Umstand erscheint mir gegenwärtig als besonders bedeutungsvoll, und den Weg zur tieferen Begründung von Hellriegel's schöner Entdeckung der Assimilation des freien Stickstoffs durch die Papilionaceen zu bezeichnen.

In dieser Beziehung wünsche ich noch hervorzuheben, dass mir eine zu einer ganz anderen Organismengruppe gehörige, sehr allgemeine, nicht mit den Papilionaceenwurzeln symbiotisch verbundene Erdmikrobe *(Streptothrix humifiea* n. s.) bekannt geworden ist, welche bei Gegenwart von Kohlenhydraten, zu einer ebenso vollständigen Stickstofferschöpfung des Bodens Veranlassung giebt, wie *B. radicicola.*

Bei fehlender organischer Nahrung findet überhaupt kein Wachsthum von *B. radicicola* statt. Aufgeschlemmte Bacterien in Leitungswasser mit Kreide und 0,1 gr Ammonsulfat pro Liter sterben bald ab.

Zur Nitrat- und Nitritbildung geben die Wurzelbacillen keine Veranlassung. Nur in überjährigen Culturen von *Bacillus Ornithopi,* wobei Pepton, Rohrzucker und Asparagin als Nahrung gedient hatten, waren Spuren eines Körpers entstanden, welcher die Diphenylaminreaction gab. Ueberdies hatten sich darin etwas Calciumcarbonat und Calciumoxalat in der Nähe der Impfstriche gebildet.

---

[1]) Nur sehr geringe Mengen, z. B. hundertstel Procente, sind förderlich, grössere Zugaben dieser Körper wirken giftig und hemmen das Wachsthum auf immer. Selbst Peptone dürfen nur in grosser Verdünnung angewendet werden, sind jedoch in viel höheren Concentrationen (z. B. 1 %) verwendbar wie Ammonsalze und Nitrate.

[2]) Botan. Ztg. 1888, S. 725.

Der Unterschied zwischen den verschiedenen Papilionaceenbacterien ist grosser, als wie ich das früher annahm. So gehört *Bacillus Ornithopi* augenscheinlich zu einer andern Art, wie *B. Fabae*. Denn *Vicia Faba*, inficirt mit einer in 1889 isolirten Cultur von *B. Ornithopi*, erzeugte durchaus keine Knöllchen. Dadurch erklärt sich zu gleicher Zeit, warum die Serradelle *(Ornithopus sativus)*, deren Knollchen den nämlichen Bacillus wie *Ornithopus perpusillus* enthalten, in unseren Gärten vollständig frei bleibt von Knöllchen, selbst wenn sie in der Mitte zwischen *Vicia*arten wächst, welche damit reich beladen sind.

La biologie d'une bactérie pigmentaire.

Archives Néerlandaises des Sciences Exactes et Naturelles, Haarlem, Tome XXV, 1892, p. 227—280. — Verscheen gedeeltelijk en zonder plaat onder den titel: »De levensgeschiedenis eener pigmentbacterie« in Verslagen en Mededeelingen der Kon. Akademie von Wetenschappen, Amsterdam, Afd. Natuurk., 3de Reeks, Deel VIII, 1891, blz. 307—315, en verscheen onder den titel: »Die Lebensgeschichte einer Pigmentbacterie« in Botanische Zeitung, Leipzig, 49. Jahrgang, 1891, S. 705—712, 725—734, 741—752, 757—770, 773—781.

§ 1.

Habitat et isolement du *Bacillus cyaneo-fuscus*. „Colle forte noire." „Fromage bleu."

En février 1888 je reçus de M. van Lookeren Campagne [1]), à cette époque chimiste de la fabrique de gélatine de Delft, un échantillon de colle forte colorée en noir et qui, d'après les essais auxquels il l'avait soumise, transmettait facilement par contagion cette couleur à une colle saine, qu'elle rendait ainsi impropre aux usages ordinaires. Je pus m'assurer de l'exactitude de cette observation, et remarquai en outre que, pour reproduire le phénomène avec la même intensité dans des expériences successives, il fallait augmenter progressivement la dose de matière servant à l'inoculation; autrement, les bactéries étrangères faisaient obstacle par leur pullulation excessive. La colle noire exhalait une odeur particulière, rappelant celle du sulfure d'ammonium, et elle formait beaucoup plus difficilement gelée que la colle saine.

Dans la fabrique, il fut bientôt reconnu que la cause de la calamité résidait dans un tuyau malpropre, à travers lequel avait passé de l'eau venant d'un des canaux de la ville, et qui ensuite avait été employé à conduire dans les bassins en tôle, pour s'y prendre en gelée, la dissolution de colle. Aussitôt que ce tuyau eut été nettoyé à fond, l'accident malencontreux cessa de se produire.

Mes premières tentatives pour isoler la batérie que je supposais être la cause déterminante du phénomène n'eurent aucun succès.

Comme j'avais dès l'abord observé que l'accès de l'air favorisait la coloration en noir, de sorte qu'il ne pouvait guère être question d'anaérobiose, j'étais curieux de savoir pourquoi un organisme, si manifestement apte à vivre dans la gélatine, ne pouvait être isolé par la méthode de la gélatine. Mais l'explication de ce fait ne se présenta que beaucoup plus tard, après que d'autres sources m'eurent fourni une bactérie pigmentaire au moyen de laquelle je pus provoquer artificiellement, avec des phénomènes identiques, la coloration en noir de la colle. Je reconnus alors que la contradiction apparente tenait à la facilité avec laquelle cette bactérie

[1]) Actuellement directeur de la station agronomique à Hoorn.

éprouve un affaiblissement de sa force végétative, à la suite duquel elle n'est plus capable de vivre sur une masse nourricière solide, tout en pouvant encore se développer très bien dans un milieu liquide. Je trouvai en outre que cet affaiblissement était dû à ce que les essais d'inoculation avaient eu lieu à environ 20^0 C, température qui pour peu de temps est à la vérité très favorable à l'accroissement, mais dont l'action prolongée détermine une dégénérescence.

Telle a été ma première rencontre avec la bactérie pigmentaire dont la description fera l'objet des pages suivantes et que je propose d'introduire dans la science sous le nom de *Bacillus cyaneo-fuscus*.

Ce microbe est aussi la cause, ou du moins l'une des causes, d'une altération assez fréquente dans les fromages de Hollande, surtout dans ceux dits „d'Edam", altération qui, sous le nom de „bleu", est très redoutée des fabricants de ces produits et sur laquelle je reviendrai au § 8 du présent Mémoire.

Le fromage toutefois, pas plus que la colle forte, n'est le séjour naturel du *Bacillus cyaneo-fuscus*, car dans la masse caséeuse cette bactérie ne subit pas seulement un affaiblissement, comme dans la colle, mais elle y meurt bientôt, par suite de la formation d'acide sous l'influence de ferments lactiques. L'habitat proprement dit doit donc se trouver ailleurs, et mes recherches ont appris qu'à cet égard le premier rang, tout au moins, revient au sol et à l'eau.

Abstraction faite des expériences exécutées avec du fromage, et dont il sera parlé plus loin, j'ai trouvé et isolé le *Bacillus cyaneo-fuscus* à six reprises différentes. Il ne me semble pas superflu de mentionner ces cas séparément, vu que j'ai à y rattacher quelques remarques assez intéressantes.

La première fois, je rencontrai notre bactérie, en colonie unique, parmi une cinquantaine de colonies de quelques autres espèces, à l'occasion de l'examen d'une infusion colorée, obtenue en laissant séjourner dans de l'eau de conduite quelques racines de *Vicia Faba* [1]). La colonie s'était formée sur une gélatine nourricière qui ne contenait qu'une décoction assez concentrée de tiges de Fève et du sucre de raisin. Elle liquéfiait très fortement, et produisait une matière bleue diffusive, tandis que, dans la colonie elle-même, les bacilles morts étaient colorés en brun assez foncé.

Dans deux autres cas, l'ensemencement eut lieu sur une gélatine contenant de l'extrait de malt. L'une fois, on avait opéré avec une eau ayant servi à nettoyer des cuves à fermentation; l'autre fois, avec une eau analogue, qui avait traversé un tuyau ordinairement employé à conduire de la drèche fermentée. L'eau provenait d'un des canaux de la ville. Les colonies présentaient les mêmes propriétés que dans le cas précédent et étaient caractérisées surtout par la teinte bleue de la matière colorante diffusive, qui doit peut-être les faire distinguer, comme variétés, de la forme suivante [2]).

[1]) La coloration bleue ou violette, qu'on observe si fréquemment lorsque des plantules vivantes de *Vicia Faba* ont été abandonnées à elles-mêmes dans une eau de conduite très légèrement alcaline, est due à une réaction tannique, exercée par un produit de décomposition des poils et des cellules épidermiques de la radicule sur les combinaisons ferrugineuses de l'eau, réduites par des bactéries.

[2]) Des expériences postérieures ont mis hors de doute que les bactéries pigmentaires de ces trois provenances sont différentes du *B. cyaneo-fuscus*.

Des expériences directes, avec l'eau de canal, ont fourni dans un cas le *Bacillus cyaneo-fuscus.* La semence, c'est-à-dire l'eau, avait été versée à la surface d'une gélatine dissoute dans l'eau pure, sans la moindre addition de matière nutritive. La gélatine elle-même avait donc fonctionné comme aliment, et la matière colorante diffusée, au lieu d'être bleue comme dans les cas précédents, avait une couleur brun foncé.

Sur un terrain de culture entièrement semblable à celui dont il vient d'être question, des colonies de *Bacillus cyaneo-fuscus* furent ensuite obtenues dans un seul cas en l'arrosant d'eau de conduite pure, dans d'autres cas par l'ensemencement d'une portion du contenu d'un vase de verre, consistant en eau de conduite additionnée d'un peu de carbonate de magnésie, de $^1/_{10}$ % de sulfate d'ammoniaque, de traces de phosphate de potasse, et, comme matière infectante, d'une trace de terre humeuse. Dans ce vase, où les matières organiques provenant de la terre servaient d'aliment aux bactéries et où il se formait beaucoup de nitrite aux dépens du sel ammoniacal, notre bacille s'était manifestement multiplié, car on en obtint, par un seul ensemencement, une demi-douzaine de colonies.

Cette observation conduisit à essayer de cultiver le *B. cyaneo-fuscus* directement au moyen de la terre, et par cette méthode aussi on obtint, dans un cas, un résultat positif.

En considérant l'ensemble de ces différentes sources naturelles, nous voyons que notre bacille pigmentaire, à l'état de liberté, se rencontre toujours dans des solutions nourricières très diluées. Comme les premiers des ensemencements ci-dessus mentionnés avaient toutefois eu lieu sur une gélatine assez concentrée, contenant de l'extrait et du sucre, il était d'emblée évident que ces terrains plus riches devaient également convenir, au moins conditionnellement, à la végétation du bacille. Mais quand, sans connaissance spéciale de la biologie de celui-ci, j'essayai de faire, avec les colonies développées sur ces masses concentrées, de nouvelles inoculations, en laissant parfaitement identiques les conditions nutritives et thermiques, il se trouva que dès la seconde ou la troisième réinoculation la croissance avait entièrement cessé. Lorsqu'on réinoculait la matière première qui s'était développée sur le terrain nutritif peu concentré, les végétations pouvaient encore supporter plusieurs fois la rénovation; toutefois, dans ce cas aussi, elles finissaient par s'éteindre complètement de sorte qu'après environ six semaines toute expérimentation ultérieure était devenue impossible, et que, pour obtenir de nouveaux matériaux d'étude, je devais en revenir au contenu du vase de verre et procéder à un nouvel isolement. Ce singulier résultat m'est resté assez longtemps énigmatique, jusqu'à ce que finalement une très remarquable influence thermique, donnant lieu à des changements héréditaires, fut reconnue, sinon comme la condition unique, — car la concentration de l'aliment exerce déjà par elle-même une certaine action, — au moins comme la condition essentielle de la perte de la faculté végétative. Nous verrons plus tard en quoi cette influence consiste; ici, je me borne à noter que mes expériences d'alors étaient exécutées à la température ordinaire d'appartement en été, de sorte que les cultures eurent à subir parfois une chaleur de 25° C, et pendant un temps plus long des températures voisines de 20° C, bien que le plus souvent je pus les maintenir au-dessous de 20° C, à savoir, aux environs de 17° C.

§ 2.

Description de la forme active du *Bacillus cyaneo-fuscus.*

Les bactéries directement provenues de leurs stations naturelles, aussi bien que celles qui en ont été obtenues, dans des conditions de température appropriées, par la culture sur diverses masses nutritives solides ou liquides, possèdent les propriétés suivantes.

Les colonies (Pl., fig. 1), en s'accroissant, liquéfient la gélatine nourricière, avec une intensité variable, suivant que cette gélatine contient plus ou moins de peptone et suivant le degré d'activité végétative des bactéries elles-mêmes. Faisons, pour le moment, abstraction de cette dernière circonstance, et occupons-nous de l'influence exercée sur les phénomènes du développement par les matières nutritives. Avant tout, il faut dire que les expériences dont il va être question ont eu lieu à des températures qui ne dépassaient que de peu 6° C, le plus souvent même restaient un peu au-dessous de ce degré, et se rapprochaient rarement, et seulement pour peu de temps, de 10° C, limite qui ne fut jamais franchie. Pendant les mois d'été, ces basses températures, à variations très lentes furent trouvées dans une cave, soit sur le sol pavé en briques, soit sur des tables de bois; en hiver, au contraire, on les trouvait dans le laboratoire, sur une table de pierre placée devant une fenêtre.

Dans ces conditions, un accroissement très énergique et une très forte liquéfaction s'observent lorsque, pour toute nourriture, il n'est offert aux bactéries que de la gélatine, sans addition d'aucune sorte. Les colonies qui se forment ainsi sur des couches épaisses de gélatine, contenues dans des boîtes de verre, sont passablement fluides et consistent en gélatine liquéfiée dans laquelle est suspendue une masse bactérienne brun noirâtre (*b s*, fig. 1); de cette masse fluide il se diffuse dans la gélatine une matière colorante brun pur (*d z*, fig 1), qui toutefois n'est jamais vue jusqu'à de grandes distances, probablement parce qu'elle subit de la part de l'air une lente oxydation, dont le produit ne serait pas susceptible de diffusion. La colonie fluidifiée a manifestement un grand pouvoir d'attraction sur l'eau, grâce auquel elle arrive bientôt à faire saillie, sous forme de goutte convexe, au-dessus de la gélatine. Si toutefois cette dernière renferme un peu de peptone ($^1/_2$ °/o est déjà suffisant), toute l'eau de la colonie est attirée dans la couche de gélatine, d'où il résulte, comme on le voit représenté dans la fig. 1, une cavité tapissée intérieurement d'une couche de bactéries.

L'examen microscopique des colonies y fait distinguer trois ou quatre éléments figurés différents, à savoir: des bactéries en bâtonnet, vivantes, incolores, ordinairement mobiles; des corps bactériens morts, colorés en brun intense, des sphérites ou cristaux de carbonate de chaux, qui peuvent cependant manquer, et des grains de pigment. De ces derniers, il sera, plus loin, traité à part. Ici, je dirai quelques mots des bactéries elles-mêmes.

Celles-ci sont des bâtonnets de longueur variable (α, fig. 5). Si, comme on l'a supposé, la gélatine a été leur unique aliment, elles sont passablement longues et d'une épaisseur ($0^\mu,2$ à $0^\mu,3$) environ égale à la moitié de celle des bacilles du foin, de sorte qu'elles doivent être rangées parmi les espèces très déliées. Ce dernier caractère ressort encore plus quand on examine des cultures liquides,

par exemple, des cultures peptonées (α, fig. 4a); les bâtonnets, alors aussi très raccourcis et longs seulement de 0μ,3 à 0μ,6, n'y ont souvent plus que 0μ,15 d'épaisseur. Les mouvements et la forme n'ont d'ailleurs rien de caractéristique et rappelent, dans les cultures peptonées, le schème primitif donné par M. Cohn pour le *Bacterium termo*. Le *B. cyaneo-fuscus* est une bactérie rigoureusement aérobie: les bâtonnets mobiles cherchent avec ardeur l'oxygène, ce qui occasionne souvent des rassemblements autour de bulles d'air accidentellement incluses dans les préparations microscopiques. Dans la profondeur des masses de gélatine ou de colle, ils ne croissent que si l'air peut y pénétrer librement. Vis-à-vis du bleu d'indigo soluble, ils montrent un pouvoir réducteur bien prononcé, mais pour le démontrer il faut recourir à des cultures qui sont déjà très riches en bactéries, et dans lesquelles, après l'addition de la préparation d'indigo, — c'est-à-dire d'une dissolution bien stérilisée d'indigosulfate de soude dans l'eau, — l'air ne peut pénétrer que très lentement. Le bleu d'indigo ordinaire, insoluble, n'est pas attaqué.

En ce qui concerne les bâtonnets morts, qui absorbent la matière colorante sécrétée (β, fig. 4a β, fig. 5), je remarquerai seulement qu'ils se présentent dans toutes les nuances depuis le brun verdâtre ou jaunâtre jusqu'au brun noirâtre foncé.

Comme masse nourricière nous avons employé, pour les expériences dont il s'agit ici, une dissolution de 10% de gélatine dans de l'eau de canal. Des dissolution plus étendues, par exemple de 4 ou 5% de gélatine, — dissolutions qui, on le sait, se prennent encore bien en masse lorsque la gélatine est de bonne qualité[1]) — se laissent également employer avec succès pour les modifications plus actives du *B. cyaneo-fuscus*, et donnent des phénomènes tout semblables à ceux décrits plus haut. C'est là une circonstance très remarquable, car beaucoup d'autres bactéries, qui ne demandent également que de la peptone pour leur entretien complet, — et qui par conséquent peuvent aussi vivre de gélatine seule, celle-ci étant peptonisée par un enzyme sécrété, — ne se développent que très peu dans les conditions indiquées, et exigent pour cela, en premier lieu, une addition de phosphate. Pour le *B. cyaneo-fuscus*, toutefois, une pareille alimentation phosphatée est non seulement inutile, mais plutôt, quand la dose ajoutée dépasse 1/10 ou 1/5% (suivant le plus ou moins d'activité des bactéries), préjudiciable au développement de l'organisme aussi bien qu'à la sécrétion du pigment. On peut juger par là combien l'aliment doit être dilué pour que ce bacille pigmentaire s'en trouve le mieux.

Une propriété très remarquable des cultures sur plaques de gélatine pure, c'est de donner lieu à des accumulations de carbonate de chaux (ε, Fig. 5), tant à l'intérieur de la masse fluide des colonies que dans l'étendue des zones de diffusion brunes (*dz* fig. 1), mais non en dehors de ces dernières. Lorsqu'on trace une simple ligne d'inoculation à la surface d'une large et épaisse plaque de gélatine, en sorte que sur une très grande masse de cette matière il ne se développe qu'un

---

[1]) La gélatine dont on a extrait les dernières traces des sels au moyen de l'eau distillée, se prend encore tout juste en gelée quand elle est dissoute, dans l'eau distillée, à raison de 2 à 3%. Encore plus étendues, les solutions ne se solidifient plus et la gélatine se montre, après refroidissement, en masses gélatineuses incohérentes. Dans l'eau froide la gélatine est parfaitement insoluble.

petit nombre de bactéries, on obtient au bout de quelques mois un si abondant dépôt de carbonate de chaux, que la gélatine, arrosée d'acide chlorhydrique, se couvre d'écume et se remplit de bulles de gaz. Ce carbonate de chaux provient du gypse de l'eau employée. Quant au composé sulfuré qui doit se former en même temps, je ne puis rien en dire.

Ce serait ici le lieu de préciser les relations d'affinité de notre bacille. Mais, étant encore dans une profonde ignorance au sujet du système naturel des Bactéries, nous ne pouvons procéder que d'une manière empirique et devrons, dans le cas actuel, nous appuyer principalement sur la production du pigment. Pour cette raison, il sera traité de ce point au § suivant.

§ 3.

Le pigment du *Bacillus cyaneo-fuscus*. Division des bactéries chromogènes en espèces chromophores, chromopares et parachromophores.

Un mot sur la relation des pigments des bactéries chromogènes avec leurs générateurs, et vice versa, ne me semble pas superflu, vu surtout que, à ma connaissance, personne n'a encore insisté compréhensiblement sur les cas très différents que l'on rencontre ici.

On peut distinguer parmi ces bactéries trois groupes principaux, qui se laissent peut-être assez convenablement désigner sous les noms de bactéries *chromophores*, b. *chromopares* et b. *parachromophores*.

Chez les bactéries *chromophores*, la matière colorante fait partie intégrante du corps, auquel elle est unie de la même façon que la matière colorante chlorophyllienne l'est aux chromatophores des plantes supérieures, ou l'hémoglobine aux corpuscules du sang. Comme exemple de bactéries chromophores, je citerai les bactéries sulfurées pourpres, décrites par Ray Lankester, Warming, Cohn, Engelmann et Winogradsky. A ce même groupe appartiennent, en tant qu'elles me sont connues, les bactéries vertes, rouges, jaunes et brunes qui ne liquéfient pas la gélatine. Il ne peut y avoir aucun doute que, chez toutes ces formes chromophores, une signification biologique déterminée, quoique le plus souvent encore inconnue, ne doive être attribuée à la matière colorante.

Comme second groupe des bactéries chromogènes j'ai nommé les b. *chromopares*, qui pourraient aussi être appelées bactéries pigmentaires proprement dites. Celles-ci sont caractérisées par le fait que, initialement, le corps bactérien vivant est toujours incolore ; la matière colorante est séparée comme telle ou comme matière chromogène incolore, et on ne doit y voir qu'un produit d'excrétion, sans utilité pour l'organisme. En accord avec ce fait, les bactéries chromopares se laissent amener tout aussi bien, ou même plus facilement, à l'état de cultures incolores qu'à celui de cultures colorées. L'exemple le plus connu de vraie bactérie pigmentaire est le *Bacillus prodigiosus*, dont la matière colorante ne se diffuse pas en dehors des colonies, mais s'unit à des particules albuminoïdes, formées peut-être par les bactéries. Il est à remarquer que les *B. prodigiosus* morts ne fixent pas le pigment rouge, tandis que des cellules mortes de levûre de bière diffusée dans les colonies, ou même dans les cultures liquides du *B. prodigiosus*, le font avec beaucoup d'énergie, en devenant rouge carmin. Notre *Bacillus cyaneo-fuscus* appartient également à ce groupe,

de même que les bacilles, plus ou moins alliés au *B. cyaneo-fuscus*, du lait bleu (*Bacillus cyanogenus*), du pus bleu (*B. pyocyaneus*) et des crachats verts (*B. virescens*). Chez ces quatre dernières espèces, le pigment est susceptible de diffusion, mais, à cause d'une transformation chimique (probablement une oxydation faisant naître un corps difficilement soluble) qu'il éprouve, cette diffusion ne s'étend pas à grande distance. Ce même pigment a beaucoup d'affinité pour certaines matières albuminoïdes et se fixe avidement sur les bactéries mortes, qui par là sont colorées en brun foncé ou en noir.

Le troisième groupe des bactéries chromogènes a été appelé celui des *parachromophores*. Elles se distinguent en ce que la matière colorante est, à la vérité, manifestement un produit d'excrétion, mais qui adhère au corps bactérien, comme chez les vraies bactéries chromophores, ne diffusant pas au dehors. A ce groupe se rapportent les *Bacillus janthinus* et *violaceus*, si abondamment répandus dans le sol et dans l'eau.

La question de savoir si une espèce de bactérie est chromophore ou parachromophore se laisse ordinairement décider déjà par la circonstance que les vraies chromophores, cultivées dans les conditions les plus variées, se développent — à moins qu'il ne naisse des variétés incolores — en colonies colorées, tandis que chez les fausses chromophores cela n'arrive, pour ainsi dire, qu'à titre d'exception.

Pour obtenir, par exemple, le *Bacillus violaceus* en cultures violettes, on doit le traiter dans des conditions exactement déterminées, notamment à basse température, et ne lui offrir pour tout aliment que des matières protéiques, avec très peu de phosphates: autrement, cette forme se développe comme une bactérie saprophyte incolore très commune. Les bactéries chromophores aquatiques non liquéfiantes, rouges ou jaunes, restent au contraire, lorsqu'elles arrivent à se développer, rouges ou jaunes.

Je n'affirmerai certes pas que la division qui vient d'être établie soit une distribution naturelle, car pour cela je connais trop peu d'espèces chromogènes; bien plutôt, je suis porté à croire que dans l'avenir on reconnaîtra chez ces organismes encore maintes autres différences, plus profondes, qui conduiront peut-être à un groupement tout nouveau. Il est certain, en tout cas, que nos chromophores embrassent beaucoup de choses hétérogènes, tandis que, d'autre part, les vraies bactéries pigmentaires (à l'exception du *Bacillus cyanogenus*) ont, non seulement entre elles, mais aussi avec les parachromophores, une affinité si grande, que ces deux groupes peuvent sans inconvénient être réunis en une même famille naturelle.

Ainsi qu'il a été dit précédemment, le *Bacillus cyaneo-fuscus* appartient aux chromopares, c'est-à-dire, aux vraies bactéries pigmentaires. Nous avons déjà vu que cette espèce excrète une matière colorante brune, diffusible. Si, toutefois, on étudie plus attentivement cette excrétion, par exemple, en cultivant la bactérie dans de l'eau de conduite additionnée de 1/2 à 2 pour cent de peptone sèche, on acquiert la conviction que le brun n'est qu'un stade avancé de la série des changements éprouvés par un produit de sécrétion qui, à l'origine, était coloré tout différemment, ou peut-être incolore. En tout cas, la première coloration visible est un beau vert soluble dans l'eau (fig. 3 *a*), qui bientôt se présente accompagné

d'un bleu d'outremer (fig. 3 *b*). Au microscope (fig. 4 *a*), ce bleu se montre composé de sphérites solides, microscopiques (γ, fig. 4 *a*), sur lesquelles nous reviendrons tout à l'heure. Plus tard seulement, le vert disparaît, pour faire place d'abord au brun (fig. 3 *b*), puis au gris (fig. 3 *c*), et enfin au noir brunâtre foncé (fig. 3 *d*). Les sphérites bleues sont beaucoup plus résistantes, mais peuvent pourtant se changer finalement en corpuscules brun foncé ou même noirs (δ, fig. 5). Je crois que tous ces changements de couleur doivent être ramenés à des degrés successifs d'oxydation d'un seul et même chromogène, bien que, lors de la réduction de ces produits oxydés, on ne voie apparaître qu'un corps très légèrement coloré en jaune, sans que les divers stades de coloration, ci-dessus indiqués, soient parcourus en ordre rétrogade.

Sous l'influence d'oxydants énergiques, tels que l'acide nitrique, l'acide chromique et le peroxyde d'hydrogène, la matière colorante, qu'elle soit diffusible ou bien retenue par les sphérites, est rapidement et assez complètement décomposée et décolorée (fig. 3 *e*). Les corps à action plus faible, l'air entre autres, déterminent également la décomposition, mais exigent pour cela un temps beaucoup plus long. Veut-on, par exemple, décolorer une solution de peptone devenue noire par le développement du *Bacillus cyaneo-fuscus*, on y parvient aisément en quelques heures au moyen de l'acide nitrique dilué, tandis que le même effet n'est produit par l'air, et encore moins complètement, qu'au bout de plusieurs semaines.

Les belles sphérites bleues possèdent des propriétés très intéressantes. On les obtient le mieux de la manière suivante. Une solution de 1 à 3 % de peptone dans de l'eau de conduite, après avoir été bien stérilisée par une ébullition trois fois répétée, est ensemencée de *B. cyaneo-fuscus*, puis abandonnée à elle-même, à une température plus basse due 10° C. Au bout de quatre ou cinq jours, la couleur jaune pâle de la solution de peptone se change en une couleur verte, qui est surtout intense à la surface, où l'air a librement accès. Très peu de temps après, commence la formation des sphérites, dont la matière colorante est évidemment un produit d'oxydation, car elle ne se montre que dans la pellicule bactérienne qui surnage le liquide, ainsi que dans un anneau touchant, à un niveau un peu inférieur, la paroi du vase de verre, là où se trouve le ménisque du liquide. Ce dernier phénomène est très caractéristique, vu que la couleur de l'anneau est d'un beau bleu, à reflet d'or comme chez l'indigo sec, et peut naturellement, quand on secoue le vase, être observée directement. L'anneau persiste d'ailleurs longtemps et se laisse encore reconnaître dans des cultures déjà assez âgées. Finalement, le changement général de la couleur du liquide, qui conduit d'abord au noir, puis au brun clair, atteint aussi l'anneau. Les sphérites sont plus ou moins solubles dans les acides forts, d'autant plus facilement que leur bleu est plus pur, d'autant plus incomplètement qu'elles sont de couleur plus noirâtre. L'acide sulfurique surtout est un bon dissolvant; il donne avec les sphérites une dissolution bleue, qui bientôt devient violette et finalement se décolore. Souvent on voit, pendant l'acte de la dissolution, se former d'abord des aiguilles de gypse et ensuite, à ce qu'il semble, des prismes de tyrosine. Le gypse provient du carbonate de chaux qui se trouve dans le liquide de culture et qui paraît s'accumuler dans les sphérites. Quant à l'origine des cristaux que je viens de désigner comme prismes de tyrosine, elle reste douteuse. En tout cas, cette substance ne forme pas la

base proprement dite des sphérites, car alors celles-ci ne seraient pas solubles dans l'acide sulfurique.

Comment faut-il donc se représenter la nature des sphérites?

Je crois avoir trouvé la réponse à cette question dans l'expérience suivante. Les agents réducteurs énergiques, en particulier l'hydrosulfite de soude, $Na\,HSO^2$, découvert par M. Schützenberger et recommandé par lui pour le titrage de l'oxygène [1]), décolorent complètement les sphérites. Si l'action se passe sous le couvre-objet, il est facile d'obtenir des corpuscules entièrement décolorés, qui correspondent aux sphérites. Donne-t-on alors accès à l'air, le liquide devient d'un beau bleu d'outremer, tandis que les sphérites peuvent rester incolores. Pour cette expérience, l'hydrosulfite doit être presque neutre, n'avoir qu'une réaction acide très faible; autrement, les squelettes incolores des sphérites se dissolvent complètement. On constate d'ailleurs aussi une différence de solubilité suivant que les sphérites ont pris naissance dans des solutions de peptone ou dans des liquides contenant d'autres corps protéiques. Notre expérience conduit à conclure que la question ci-dessus posée doit recevoir la réponse suivante: Les sphérites sont des sphérocristaux d'une matière colorante bleue; les aiguilles cristallines du sphérocristal ont pour support un squelette constitué par un corps protéique.

En étudiant la formation des sphérites au microscope, on trouve qu'elle est analogue mais pas identique à celle des corpuscules chromatiques irréguliers dans les colonies du *Bacillus prodigiosus* (voyez plus haut), c'est-à-dire, qu'elle a lieu dans notre cas par l'accumulation de la matière colorante dans les corps de bactéries en voie de dépérissement, corps qui gonflent alors fortement et peuvent prendre les formes les plus bizarres. Le corps protéique qui sert de base à ces sphérites, qui en constitue pour ainsi dire la charpente primitive, est donc le protoplasma bactérien lui-même. Cela étant, il n'y a pas lieu de s'étonner que d'autres corpuscules protéiques, présents dans les cultures, puissent également, s'ils possèdent de l'affinité pour la matière colorante, se changer en sphérites. Il est à remarquer que les sphérites de l'hémialbumine, qui se déposent de solutions peptoniques étendues, ne se colorent pas.

L'affinité des sphérites pour le carbonate de chaux remet en mémoire les remarquables calcosphérites découvertes par Harting[2]), qui consistent en un squelette d'un corps protéique, — appelé par lui, suivant les cas, calcoglobuline ou calcofibrine, — dans lequel les aiguilles calcaires microscopiques, réunies en globules, sont disposées radialement. Pour accroître encore l'analogie, je rappellerai que Harting a pu imbiber ses calcosphérites de matières colorantes de la bile et leur communiquer ainsi une coloration intense[3]). Ces matières colorantes n'étaient toutefois pas accumulées dans les sphérites, comme c'est le cas ici, à l'état cristallisé, mais à l'état amorphe.

[1]) Schützenberger, *Les fermentations*, 4e éd. p. 92, Paris 1884. Ce corps s'obtient en dissolvant du zinc dans le bisulfite de soude et ajoutant à la dissolution étendue du lait de chaux, jusqu'à sursaturation. La soustraction d'oxygène a lieu par suite de la transformation de l'hydrosulfite en bisulfite, suivant l'équation $Na\,HSO^2 + O = Na\,HSO^3$.

[2]) *Recherches de morphologie synthétique sur la production artificielle de quelques formations calcaires organiques*, Amsterdam 1872.

[3]) *l. c.*, p. 33.

Nous avons vu plus haut que les sphérites du *B. cyaneo-fuscus* se dissolvent complètement dans les acides et les alcalis; leur base bactérienne, à laquelle on aurait supposé une plus grande faculté de résistance, analogue à celle du protoplasma bactérien en général, a donc subi une modification chimique.

La matière colorante bleue rappelle à plusieurs égards le bleu d'indigo. D'abord, à l'égard de l'oxydation par l'acide nitrique, pendant laquelle se produisent les mêmes nuances de couleur, aboutissant finalement au brun jaunâtre. Ensuite, quant à l'action, ci-dessus décrite, de l'acide sulfurique concentré et des alcalis forts. Dans l'éther, l'alcool, la benzine, l'essence de pétrole, l'alcool amylique, le sulfure de carbone, le chloroforme froid ou bouillant, notre matière colorante se laisse tout aussi peu dissoudre que le bleu d'indigo. Mais l'analogie principale réside certainement dans la manière de se comporter vis-à-vis des agents réducteurs, et sous ce rapport je citerai encore une expérience très simple, qui se rattache étroitement à l'observation microscopique dont il a été question plus haut.

Lorsque le *B. cyaneo-fuscus* est cultivé dans de l'eau de conduite additionnée de 2 ou 3 % de peptone, il se forme à la surface du liquide une pellicule bactérienne très mince, mais pourtant assez consistante, d'une belle couleur bleue. Au microscope on y trouve, comme il est dit, disséminées entre les bâtonnets étroitement rapprochés, des sphérites bleues de toutes les grosseurs.

Si une pareille pellicule bleue (fig. 4 *b*) est enlevée du liquide à l'aide d'un fil de platine, puis introduite dans une éprouvette remplie de dissolution d'hydrosulfite de soude, la couleur du petit flocon ne tarde pas à se changer, par suite de la réduction, en brun sale, et la cohérence des bactéries est diminuée par l'alcalinité du liquide. Ce flocon relâché est-il alors retiré avec précaution de l'éprouvette, — et cela dès que la décoloration paraît accomplie, — puis transporté dans une goutte d'eau sur une assiette de faïence blanche, on voit la matière colorante, réduite et dissoute dans le flocon, redevenir d'un bleu intense sous l'action de l'oxygène contenu dans la goutte d'eau exactement comme le ferait le blanc d'indigo. En regardant ce liquide bleu au microscope, on reconnaît que le corps colorant ne s'y trouve pas dissous, mais suspendu en particules très ténues (peut-être globuleuses).

Bien entendu, je sais parfaitement que ces données ne suffisent pas pour l'identification positive de notre matière colorante avec le bleu d'indigo; de nouvelles recherches, qui maintenant ne présenteront plus de difficultés particulières, devront trancher la question.

Avant d'abandonner ce sujet, je dois encore faire remarquer que, dans celui des stades initiaux d'une culture (fig. 3 *a*) qui est caractérisé par la couleur vert de vessie, on ne peut observer nettement aucun phénomène de réduction au sein du liquide, bien que près de la surface la couleur soit un peu plus foncée que là où l'air ne trouve pas un libre accès. En tout cas, les bacilles ne possèdent donc pas un pouvoir réducteur appréciable à l'égard de leur propre matière colorante. On peut se demander comment ils se comportent sous ce rapport vis-à-vis du bleu d'indigo soluble, et aussi, inversement, si d'autres bactéries, qui réduisent énergiquement le bleu d'indigo, sont capables de décolorer les cultures de *B. cyaneo-fuscus*.

La première de ces questions doit être résolue en ce sens que des cultures

vigoureuses de notre bactérie réduisent le bleu d'indigo[1]. cela, toutefois, demande beaucoup de temps, et exige donc l'usage de vases où l'air ne puisse pénétrer que très lentement, par exemple, de ballons à col étroit.

Le *B. cyaneo-fuscus* ne réduit pas, au contraire, son propre pigment bleu-noirâtre, car on voit celui-ci, dans l'expérience avec le bleu d'indigo soluble, communiquer peu à peu, à partir de la surface, la coloration foncée originale à la dissolution qui contient du blanc d'indigo. Il serait inconsidéré, toutefois, d'en conclure que notre bactérie est absolument incapable de réduire son propre pigment. En effet, les sphérites bleues fussent-elles réellement composées principalement de bleu d'indigo[2]), il n'y aurait pas encore lieu de s'étonner qu'un pareil corps coloré solide, précisément à cause de sa solidité ne pouvant pas se diffuser dans la bactérie, ce qui semble pourtant nécessaire pour la réduction, reste inaltéré.

La seconde question, à savoir, si d'autres bactéries que j'ai soumises à cette expérience sont en état de réduire les pigments du *B. cyaneo-fuscus*, doit être résolue par la négative. Cela s'applique, notamment, aux ferments lactiques du fromage d'Edam, lesquels exercent une forte action réductrice sur le bleu d'indigo. On comprend ainsi pourquoi les taches foncées du fromage, qui sont dues à une infection par le *B. cyaneo-fuscus*, conservent invariablement leur couleur, bien qu'elles regorgent ordinairement de bâtonnets du ferment lactique. Au § 9 nous reviendrons d'ailleurs sur la matière colorante des taches bleues du fromage, quoique je n'aie pas grand'chose à ajouter en fait de détails vraiment nouveaux.

§ 4.

Nutrition du *Bacillus cyaneo-fuscus*.

Notre bacille pigmentaire se range, sous le rapport des matières nutritives reconnues nécessaires, parmi les *organismes à peptone*, c'est-à-dire que, pour aliment plastique complet, suffisant au développement de tous les phénomènes biologiques, il ne demande, en dehors des sels, qu'un corps albuminoïde. Comme tel, on peut prendre le peptone sèche, la gélatine, le blanc d'œuf, la fibrine, le gluten, la caséine, et probablement toute une série d'autres corps protéiques.

Dès que ce point eut été fixé, j'exécutai les expériences suivantes.

Un œuf cuit dur fut soigneusement dépouillé de sa coque, flambé à un bec de Bunsen, puis placé dans une boîte de verre bien propre. Il fut alors inoculé en différents points de la surface avec une culture de *B. cyaneo-fuscus* et abandonné à lui-même, à une température de 6 à 10° C. Au bout de trois jours, un développement se laissait déjà constater, et après trois semaines il s'était formé des taches noires larges d'un centimètre, qui continuèrent à s'étendre pendant plusieurs mois, jusqu'à ce qu'enfin la surface entière de l'œuf fut couverte d'une couche

---

[1]) Je ne connais encore aucune bactérie, liquéfiant la gélatine, qui ne réduise pas le bleu d'indigo soluble. Par contre, je puis citer plusieurs formes non liquéfiantes auxquelles ce pouvoir fait défaut, par exemple, le *B. radicicola*.

[2]) Actuellement, je suis convaincu que le corps pigmentaire des sphérites *de couleur bleu pur* est bien réellement du bleu d'indigo, ou une matière très voisine. dans les sphérites colorées en d'autres nuances je soupçonne, comme dans les cultures liquides de couleur analogue, des produits de l'oxydation de l'indigotine.

noire de bactéries. Une semblable préparation, parvenue au stade moyen, se voit représentée dans la fig. 2. Les bactéries ne donnent lieu, évidemment par suite de la richesse en peptone du blanc d'œuf peptonisé, qu'à une liquéfaction insignifiante; néanmoins, le centre de chaque tache est excavé et rempli de matière demi-liquide. Au microscope (fig. 6), on reconnait que les bactéries des taches sont assemblées en pellicules, d'où il résulte que des masses grises cohérentes deviennent visibles dans les préparations. La figure est très intéressante encore sous d'autres rapports. On y distingue des bactéries vivantes incolores, en forme de bâtonnets ou de fuseaux; des corps bactériens morts, bruns, qui ont accumulé la matière colorante brune; des corpuscules noirs, souvent à faces planes, provenus soit de bactéries mortes, soit d'autres particules dans lesquelles s'est déposée la matière colorante; enfin, quelques sphérocristaux de pigment, colorés en bleu d'outremer. Le blanc d'œuf, à l'état cuit, constitue une excellente masse nourricière.

Cette dernière remarque s'applique aussi à la caséine. Celle que j'employai était d'un blanc de neige et avait été purifiée au moyen de dissolutions répétées dans le carbonate de soude, suivies de précipitations par l'acide acétique, et au moyen de l'éther. De cette préparation, je fis simplement bouillir 1 à 2 $^0/_0$ dans de l'eau de conduite, jusqu'à stérilisation assurée. J'infectai alors avec le *B. cyaneo-fuscus* et abandonnai le liquide trouble à une température de 6 à 10° C. Au bout de quelques jours déjà, la dissolution de la caséine commença à devenir manifeste, et en même temps commencèrent les changements de couleur. Le vert et le bleu purent à peine être observés, si rapide fut la prééminence acquise par le brun et le noir. Les sphérites étaient identiques a celles qu'on trouve dans les taches du fromage, c'est-à-dire qu'elles n'étaient pas de couleur indigo, mais noirâtres.

Avec la caséine j'ai encore exécuté une autre expérience. Du lait frais ayant été coagulé par la présure, la masse caséeuse obtenue, soit préalablement salée, soit non salée, fut infectée, tant à la surface qu'à l'intérieur, avec le *B. cyaneo-fuscus*.

Le développement ne fut pas aussi vigoureux qu'il l'avait été dans l'expérience précédente; au bout d'une couple de semaines seulement, on put voir de petites taches bleu-noirâtre, remplies de corpuscules pigmentaires foncés, comme le montre la fig. 7. A l'intérieur aussi, le processus était reconnaissable; mais dès que les bactéries étrangères, que je n'avais pas éliminées, eurent déterminé la putréfaction de la masse caséeuse, le développement du *B. cyaneo-fuscus* et la formation du pigment cessèrent entièrement.

Des expériences analogues à celles qui viennent d'être décrites ont été faites avec du gluten de froment et ont donné les mêmes résultats. Il va sans dire que la vessie des animaux, leur chair et autres matières de ce genre se prêtent également, après lavage et purification, aux expériences sur le *B. cyaneo-fuscus*. Quant au tissu corné et aux fibres élastiques, la question de savoir s'ils peuvent être décomposés par notre bactérie et servir à sa nutrition, n'est bas encore résolue.

Avec l'asparagine seule, je n'ai pu observer aucun développement. Celui-ci est au contraire possible quand, outre l'asparagine, on donne de la glucose; on obtient alors une culture dont la couleur est d'abord le vert de vessie, puis le brun jaunâtre, mais cette culture renferme très peu de sphérites, et celles-ci sont colorées en vert, non en bleu. Dans ces conditions, le développement est lent et

difficile, évidemment, les peptones ou les corps protéiques liquéfiés par le bacille, surpassent de beaucoup en pouvoir nutritif[1] l'asparagine mêlée de sucre.

Le sucre, additionné de sels ammoniacaux ou de nitrates, a été trouvé impropre à la nutrition.

Il en est de même du tartrate et du malate d'ammoniaque. Ces deux substances furent essayées parce qu'elles constituent un excellent aliment pour le *Bacillus cyanogenus* du lait bleu[2].

De tous ces résultats, le plus important est sans contredit celui d'après lequel les peptones, ou les corps protéiques liquéfiés par l'enzyme protéolytique de la bactérie, suffisent à sa nutrition complète.

Au reste, le *B. cyaneo-fuscus* n'est pas seul sous ce rapport; je connais toute une série de bactéries douées de la même aptitude. Citons, par exemple, le *Bacillus prodigiosus*, les bacilles lumineux à peptone (*Photobacterium indicum* et *Ph. luminosum*), les bacilles du choléra et différentes bactéries saprophytes, parmi lesquelles les espèces de *Proteus*.

Le fait est surtout remarquable en ce qu'il nous indique, pour l'acide carbonique de la respiration, une origine toute différente de l'origine ordinaire. Si l'on se reporte, en effet, au schème universellement admis du chimisme de la respiration, — d'après lequel l'acide carbonique dissocié de la matière vivante est incessamment remplacé par la fixation d'un hydrate de carbone, avec le concours de l'oxygène libre en cas d'aérobiose, sans cette intervention en cas d'anaérobiose, — il est évident que, chez les organismes à peptone, nous nous trouvons à cet égard en présence d'une source d'énergie non reconnue comme telle jusqu'ici. Cette conclusion, facile à contrôler, vu que les matériaux nécessaires abondent dans tous les laboratoires, ne sera pas contestée, je pense, et il me semble que nous devons y reconnaître un élargissement très notable de nos idées sur les phénomènes biologiques en général.

La première question qui s'impose, à ce nouveau point de vue, est celle du produit secondaire auquel doit donner naissance la nutrition purement peptonique. Cette question est double, la peptone fonctionnant à la fois comme aliment plastique et comme aliment respiratoire. En ce qui concerne la nutrition plastique, une simple addition de la peptone au protoplasme, au besoin avec polymérisation ou déplacement d'atomes, pourrait problement être admise lors de la formation de la substance vivante nouvelle.

Les produits secondaires mis en liberté avec la génération de la force nécessaire à cet effet, donc avec la respiration, — laquelle force doit être fournie par la décomposition d'une autre portion de la peptone, — c'est-à-dire, les substances excrétoires qui naissent à côté de l'acide carbonique par l'absorption de l'oxygène respiratoire, pourraient différer suivant les conditions expérimentales. A des températures plus ou moins élevées, et aussi dans d'autres circonstances défavorables,

[1]) Par pouvoir nutritif j'entends le rapport entre le poids de l'aliment plastique offert et le poids de la substance vivante formée, les conditions étant d'ailleurs égales et l'activité végétative identique.

[2]) Je ne saurais ranger le *Bacillus cyanogenus* parmi les microbes à peptone, vu que cette espèce, bien que pouvant se développer aux dépens de la peptone seule, est alors incapable, sans accompagnement d'autres corps, d'engendrer de la matière colorant

il se forme toujours, comme produit final, de l'ammoniaque, qui dans les cultures se présente très souvent à l'état de phosphate ammoniaco-magnésien[1]). En cas de conditions nutritives plus favorables, par exemple si les sels, les acides, les alcalis et autres corps non assimilables se trouvent dans les proportions les plus avantageuses et surtout si les conditions thermiques sont le mieux appropriées à la vie, il pourrait au contraire se former, aux dépens de la peptone, des produits de dédoublement moins avancés. Tout au moins, l'obtention de produits de décomposition cristallins est alors beaucoup moins facile que dans le cas précédent. Peut-être cela tient-il en partie à l'enzyme albuminique sécrété par les bactéries à peptone, enzyme qui, surtout à des températures un peu élevées, agit très énergiquement et décompose même la peptone en leucine et en tyrosine.

Une autre question qui, au point de vue de la nutrition exclusivement peptonique, parait avoir de l'importance, est celle de la possibilité ou de l'impossibilité de l'anaérobiose dans cette forme d'échanges nutritifs. A cet égard, malheureusement, il n'y a pas grand'chose à dire jusqu'ici. Je ne saurais encore décider si, dans le règne des microbes, un *développement* anaérobie peut à un degré quelconque avoir lieu, lorsqu'on leur offre seulement de la peptone ou des corps albumineux susceptibles de protéolyse[2]); certains processus de putréfaction semblent, il est vrai, l'indiquer, mais ces processus n'ont pas encore été suffisamment étudiés[3]). Chez le *Bacillus cyaneo-fuscus*, qui est strictement aérobie, il ne saurait naturellement être question d'un pareil phénomène. Mais le développement n'est qu'une des nombreuses fonctions vitales d'un organisme, et lors même que ce développement exige la présence d'oxygène libre, il ne s'ensuit nullement qu'il doive en être de même pour d'autres fonctions[4]); c'est ce que nous apprend d'ailleurs le fait de la réduction, par beaucoup de schizomycètes aérobies, du bleu d'indigo en blanc d'indigo, — réduction que nous avons trouvée aussi, à un faible degré, chez le *B. cyaneo-fuscus*, — ou du salpêtre en nitrite, réduction qui naturellement doit avoir lieu sans l'intervention de l'oxygène. D'autres bactéries à peptone peuvent également fonctionner, sans développement il est vrai, en l'absence d'oxygène libre, comme je pourrais le prouver par plusieurs exemples.

---

[1]) Cette substance n'est nullement propre aux microbes à peptone; elle se trouve aussi comme produit d'excrétion chez des organismes dont le schème de nutrition est tout différent, par exemple, chez les bactéries à peptone et carbone, qui, outre la peptone, exigent encore quelque matière carbonée particulière, telle que le sucre, la glycérine, etc. A ce groupe appartiennent, entre autres, la bactérie lumineuse ordinaire (*Photobacterium phosphorescens*).

[2]) Les anaérobies qui me sont connus d'un peu près demandent, comme sources de carbone et d'azote, deux corps différents.

[3]) Note postérieure. Le *Bacillus putrefaciens coli* peut se multiplier, fonctionner et produire des spores à l'abri des derniers traces d'oxygène libre, dans une solution qui ne contient que de la peptone.

[4]) Une réserve d'oxygène, c'est-à-dire une provision d'oxygène fixe, précipité en quelque sorte sur le protoplasme, est indispensable à tous les aérobies, pour toutes les fonctions vitales; mais l'existence ne s'en laisse démontrer que par des expériences sur le développement. A l'observation directe, cet oxygène fixé sur la matière vivante reste jusqu'à présent inaccessible.

§ 5.

Sur l'affaiblissement de la force végétative chez le *Bacillus cyaneo-fuscus*.

Mon intérêt particulier pour la biologie du *B. cyaneo-fuscus* a été éveillé par la circonstance que cette bactérie pigmentaire m'a appris à connaître, avec une netteté extrême, certains phénomènes provoqués par des influences de température, fort analogues à ceux que plusieurs observateurs ont décrits en détail pour les microbes pathogènes et que moi-même j'avais retrouvés, plus ou moins distinctement, chez maints autres saprophytes. Ces phénomènes ont rapport à la perte de caractères, surtout à l'affaiblissement de la force végétative et aussi, dans une moindre mesure, à la disparition de la faculté de produire du pigment et même de former de l'enzyme.

Ces trois phénomènes sont, chez notre bactérie, dans une certaine corrélation, qui toutefois ne peut pas être regardée comme fondamentale, par la simple raison déjà qu'on n'en trouve pas trace chez des formes voisines, qui dans des conditions déterminées montrent également des pertes de caractères.

Le point essentiel, dans ces phénomènes, a déjà été maintes fois mis en lumière: pourtant, on verra dans les lignes suivantes que les changements observés par moi renferment assez de neuf pour que l'exposition n'en paraisse pas superflue; je crois même, en traitant de l'action prolongée des températures optima sur la végétation, toucher à un sujet d'intérêt général.

Après ces préliminaires, considérons de plus près le phénomène lui-même.

Lorsque, en juin 1890, la température de mon laboratoire oscillant autour de 15° C. j'entrepris l'étude d'une culture de *B. cyaneo-fuscus* qui venait d'être isolée de l'eau de conduite, les ensemencements sur de l'eau de canal solidifiée par 10 °/o de gélatine se montrèrent très actifs. Pour obtenir des colonies de germes isolés, je procédai comme d'habitude: une trace de la matière d'ensemencement fut agitée dans un petit matras avec de l'eau stérilisée, puis cette eau fut versée sur une épaisse couche de gélatine figée dans une boite de verre, après quoi on la laissa rapidement s'écouler, de sorte que çà et là seulement des germes isolés restaient adhérents à la surface de la gélatine. Les colonies de notre bactérie commencèrent à se développer au bout de trois ou quatre jours et continuèrent ensuite à s'étendre lentement, en liquéfiant le terrain de culture. Dans la cage vitrée où se trouvaient les cultures, on eut soin de ne jamais laisser s'élever la température au-dessus de 22° C; le plus souvent elle restait au-dessous de 17° C[1].

Après avoir pratiqué avec ces colonies, dans les conditions indiquées, plusieurs réinoculations régulières, donnant lieu à un développement vigoureux, je remarquai, au commencement de septembre, en faisant la huitième culture, qu'il n'était plus possible d'obtenir la croissance sur gélatine. A la vérité, les cinquième, sixième et septième-ensemencements avaient aussi déjà présenté, dans le retard et l'irrégularité de la croissance, des phénomènes d'affaiblissement, mais je n'en compris clairement le sens que lorsque, à la huitième répétition, rien ne se développa plus.

[1]) Cette cage se trouve dans une partie de mon laboratoire où il arrive seulement de la lumière diffuse très faible.

La première question qui se posait, était de savoir si la culture servant à l'ensemencement avait dépéri par l'une ou l'autre cause. Pour résoudre cette question, de larges lignes d'inoculation furent tracées sur des plaques de gélatine, puis, au bout de plusieurs jours, examinées attentivement à la loupe. Cet examen y révéla non seulement une légère liquéfaction du terrain de culture, mais aussi l'existence de très petites colonies incolores, dont bientôt, toutefois, la croissance s'arrêta complètement, et pour toujours.

D'une manière différente, et plus définitive, je réussis pourtant à mettre en evidence que la mort n'était pour rien dans le phénomène. En effet, lorsque les bactéries qui avaient cessé de pouvoir se développer sur la masse formée de 10 % de gélatine et d'eau de canal furent portées dans des solutions de 1/2 % de peptone sèche dans de l'eau de conduite, les phénomènes ordinaires se reproduisirent, de telle sorte que c'est à peine si quelque indice d'affaiblissement se laissait remarquer. Le liquide devint d'abord d'un beau vert, ensuite il se forma contre le verre un anneau méniscoïde bleu, et finalement le tout se colora en brun assez foncé; seulement, cette couleur finale n'atteignit pas la profondeur d'intensité qu'elle avait dans les cultures primitives, non affaiblies.

Avec cette culture peptonique furent maintenant pratiqués de nouveaux ensemencements sur gélatine, mais ceux-ci ne donnèrent aucune trace de développement, preuve que l'affaiblissement était héréditaire.

Lorsque, au contraire, une gouttelette de cette même culture peptonique fut introduite, à l'aide d'un fil de platine, dans une nouvelle solution de 1/2 % de peptone dans de l'eau de conduite, tout redevint, en apparence, normal; la croissance et la formation du pigment semblaient aussi intenses que dans la culture précédente. Les autres conditions culturales avaient été maintenues, autant que possible, identiques; la température, en particulier, n'avait jamais dépassé 22° C.

De nouveaux ensemencements eurent ensuite lieu à de courts intervalles, chaque fois avec la culture faite en dernier lieu. En quatre semaines de temps furent ainsi obtenues six cultures peptoniques, qui devaient évidemment embrasser une longue série de générations. Quand, au commencement d'octobre, je pratiquai le septième ensemencement, je soupçonnai qu'il en résulterait quelque chose de nouveau, tellement le sixième ensemencement avait tardé à se développer normalement. Cette présomption était fondée: il se produisit, à la vérité, une végétation bactérienne très caractéristique, jaune orangé, grossièrement granuleuse, mais celle-ci était extrêmement pauvre en substance, et, ensemencée à son tour, se montra incapable de développement ultérieur. La série de ces essais se trouva ainsi close.

Comme mes expériences sur plusieurs autres bactéries m'avaient préparé à ce résultat, et que je savais qu'en certains cas une basse température prévient les difficultés culturales, j'avais, dès le mois de juin, établi quelques cultures dans la cave du laboratoire, à une température presque constante de 10° C, qui ne de descendit au-dessous de ce point qu'au mois d'octobre. C'étaient aussi des cultures de *B. cyaneo-fuscus* dans des solutions à 1/2 % de peptone sèche.

Aussitôt qu'eut été obtenu le résultat d'affaiblissement ci-dessus mentionné, j'opérai, au commencement d'octobre, un ensemencement sur gélatine avec une des cultures établies dans la cave, culture qui datait du 10 juin. Au bout de trois ou quatre jours on put observer les premières traces de développement, et après dix

autres jours j'étais de nouveau en possession d'une belle et très vigoureuse culture en colonies, sur eau de canal avec 10 °/o de gélatine. Il ressortait en tout cas de là, sans la moindre ambiguïté, qu'un processus de dépérissement spontané ne pouvait être la cause de l'affaiblissement dont il s'agit. Mais dans la cave, à la basse température qui y régnait, et en l'absence de réinoculations, la division cellulaire avait été extraordinairement retardée. Comment se comporterait, à cette température, une lignée continuellement inoculée à nouveau et embrassant par conséquent aussi une longue suite de générations?

Pour résoudre cette question, des cultures pures avaient été commencées dans la cave tout au début du mois d'octobre et furent continuées dans le laboratoire aussitôt que les froids de l'hiver se firent sentir; les boites de verre y étaient placées sur une table de pierre, dont la température resta, en décembre, à environ 5° C. Dans ces conditions, la végétation était ralentie, mais pourtant très florissante. Pour donner la première impulsion au développement, les plaques de gélatine étaient, à chaque nouvelle inoculation, tenues pendant deux ou trois jours à une température de 12 à 15° C, puis portées sur la table de pierre dès que les colonies devenaient visibles. Après une douzaine d'inoculations successives, ainsi conduites, la croissance n'avait subi aucune atteinte, et des ensemencements de ces différentes générations, dans des solutions de peptone, s'y développaient normalement et leur communiquaient d'abord la couleur verte, puis la couleur noire. Par inoculation en retour, de ces solutions sur la gélatine, on obtint aussi, jusqu'à la fin, des colonies ordinaires.

Dans le cas décrit plus haut, une influence thermique pouvait donc seule être la cause de l'affaiblissement.

Bien que ce résultat s'accorde en général avec ce que l'expérience a appris des bactéries pathogènes, dont les formes mitigées naissent de la matière virulente par l'influence d'une élévation de température, on ne saurait méconnaître que, sous un rapport important, les phénomènes décrits pour le *Bacillus cyaneo-fuscus* étendent la notion déjà acquise. Tandis que jusqu'ici la chaleur n'avait été appliquée, pour ainsi dire, que comme agent de laboratoire, on reste, avec mes expériences, dans les limites climatologiques d'un été ordinaire. Ainsi M. Pasteur[1]), en 1880, et M. Chauveau[2]), en 1883, ont obtenu le bacille du charbon à l'état atténué en le cultivant à des températures artificiellement élevées. M. Chauveau, ayant ensemencé du bouillon avec du sang de rate, laissa le développement s'opérer d'abord tout un jour à 42° C, puis chauffa la culture pendant une heure à 47° C, ce qui donna un premier degré d'atténuation. En continuant à appliquer cette même chaleur de 47° C, il obtint au bout de deux heures un second degré d'atténuation, et au bout de trois heures une forme complètement privée de virulence. D'après M. Chauveau, cette propriété était héréditaire.

M. Pasteur[3]) a également employé cette méthode pour obtenir le vaccin du charbon, et MM. Koch, Gaffky et Löffler[4]) ont constaté, de leur côté, les faits en question.

[1]) *Comptes rendus*, T. 91, p. 673.
[2]) *Ibid.*, T. 96, p. 615.
[3]) *Ibid.*, T. 92, p. 430; 1881.
[4]) *Mitth. Gesundheitsamt*, T. 2, p. 150; 1884.

Chez moi, au contraire la température active de l'affaiblissement n'avait pas, nous l'avons vu, dépassé 22° C.

Il existe, toutefois, encore une autre série de recherches, qui se rapproche plus de la mienne et que je rapporterai succinctement. Ce sont les observations de M. Schottelius sur la perte de l'aptitude à former du pigment chez le *Bacillus prodigiosus*, la bactérie universellement connue du »pain saignant«. De cette bactérie, qui suivant M. Schottelius végète le mieux aux températures comprises entre 15 et 25° C, il obtint, simplement par la culture sur des tranches de pomme de terre, à 41° C, des modifications blanches, héréditaires. Quant à la température exigée, il remarque ce qui suit[1]: »Au sujet de tous ces changements produits par la chaleur, il faut retenir que la durée de l'action et le degré de la température sont dans une corrélation telle, que l'effet déterminé par une exposition plus courte à une température supérieure est également obtenu par un séjour plus long à une température inférieure.«

Moi-même j'ai décrit des changements analogues, observés chez les bactéries lumineuses à peptone[2]).

Je ne puis quitter ce sujet, sans dire encore un mot de la manière dont on doit se représenter l'action de la chaleur dans les cas en question.

Rappelons d'abord qu'il existe plusieurs méthodes d'après lesquelles peuvent être produites des cultures atténuées[3]). La première et, à ce que je crois, la plus importante découverte dans cette direction est due à M. Pasteur[4]), qui trouva que des cultures du bacille du choléra des poules avaient, au bout de 9 à 10 mois, perdu leur virulence et ne pouvaient plus donner lieu, chez les animaux inoculés, qu'à des symptômes locaux. Plus tard on a reconnu, pour toute une série de bactéries, que les vieilles cultures sont en partie dépouillées de leurs propriétés, pathogènes ou autres, c'est-à-dire que, si l'on en forme par ensemencement des colonies séparées, on obtient des formes différentes, se distinguant entre elles par la circonstance que les caractères spécifiques ne sont plus complets chez toutes. C'est ainsi que quelques-unes ou la totalité des colonies des bacilles du choléra, de l'érysipèle, du typhus, de la morve perdent peu à peu leur virulence; celles du *Photobacterium phosphorescens* perdent leur pouvoir lumineux; celles des bactéries butyriques du lactate de chaux, leur pouvoir de ferment. Ce qui donne à ces faits un intérêt spécial, c'ést qu'on ne saurait douter que le changement ne soit dû à l'action exercée sur ces organismes par leurs propres produits d'excrétion. Quant à vouloir expliquer cette action sur la matière vivante des bactéries, nous devons provisoirement y renoncer. Il convient seulement de remarquer que les faits cités conduisent à la conclusion, sinon nécessaire au moins très probable, que les influences thermiques ne sont pas nuisibles directement, mais le deviennent en exaltant l'action nocive des »produits d'excrétion«. Si j'emploie ce terme, »produits d'excrétion«, ce

---

[1]) *Biologische Untersuchungen über den* Micrococcus prodigiosus, *Festschrift für Kolliker*, 1887, p. 12.

[2]) *Sur l'aliment photogène et l'aliment plastique des bactéries lumineuses,* dans *Arch. néerl.*, T. 24, p. 369.

[3]) Un bon et court aperçu de ces méthodes a été donné par M. Elfving, *Studien über die Einwirkung des Lichtes auf die Pilze,* p. 135, Helsingfors 1890.

[4]) *Comptes rendus,* T. 91, p. 670; 1880.

n'est nullement que je me figure les matières actives comme se trouvant nécessairement en dehors du corps des bacilles; je crois, au contraire, qu'en cas de croissance très vigoureuse, — cas si fréquent à une température un peu élevée, — les matières en question (sans doute des corps protéiques, ne diffusant que très lentement) ne s'éliminent pas avec une rapidité suffisante et deviennent alors tout particulièrement nuisibles, précisément parce qu'elles se trouvent encore à l'intérieur des cellules bactériennes, où, à cause de la température, elles peuvent agir très énergiquement.

D'après tout ce qui précède, je regarde l'action débilitante de la température, malgré sa haute importance, comme ne constituant que le facteur secondaire dans la production de cette forme la plus simple de la variabilité.

§ 6.

Est-il possible de rendre leur activité aux cultures affaiblies du *Bacillus cyaneo-fuscus*?

J'ai fait plusieurs expériences pour trouver la réponse à la question posée en tête de ce paragraphe. Un résultat positif était évidemment à espérer de la culture longtemps prolongée, à basses températures, des bacilles affaiblis. Antérieurement déjà, j'avais recueilli quelques résultats d'expériences dans cette direction, au sujet de la bactérie lumineuse de la mer du Nord (*Photobacterium luminosum*), qui perd très facilement sa faculté photogénique, — pour cela il suffit par exemple de la cultiver à la température ordinaire des appartements, — mais la récupère par une longue croissance à des températures au-dessous de 9° C. Ces expériences avaient fait voir qu'il est particulièrement favorable d'établir des cultures dans lesquelles une grande masse nourricière ne reçoit qu'un petit nombre de germes, de façon que des divisions très nombreuses puissent avoir lieu avant que le terrain nourricier ne soit épuisé et avant que les produits propres des échanges nutritifs ne deviennent nuisibles.

Le *Bacillus cyanogenus*, la bactérie du lait bleu, m'avait donné des résultats analogues. A une forme qui, par suite de culture prolongée à une température dépassant 20° C, était privée de la faculté de produire du pigment dans le lait bouilli, j'avais pu restituer ce caractère en la cultivant longtemps à des températures inférieures à 15° C.

Chez ces deux bactéries, j'avais déjà remarqué que, outre la température, il y a encore une autre circonstance dont il faut soigneusement tenir compte, à savoir, la concentration de la masse nourricière. Je trouvai avantageux, en effet, — et cela pourrait bien être d'une application générale aux microbes plus ou moins difficiles à cultiver, — de ne donner l'aliment qu'à l'état dilué: l'affaiblissement est alors plus facile à prévenir que chez les cultures en terrain trop riche. Pour les expériences de stimulation du *B. cyaneo-fuscus*, je n'ai, en conséquence, employé que des dissolution de 1/2% de peptone sèche dans de l'eau de conduite, et pour les cultures subséquentes sur substratum solide, j'ai fait usage d'une masse ne contenant que 10% de gélatine, également dissoute dans de l'eau de conduite. L'effet de la condition dont il s'agit pourrait s'expliquer de la même façon que celui de la première: il tient peut-être à ce que, dans les solutions nutritives étendues, les produits d'excrétion

qui déterminent l'affaiblissement, interviennent eux aussi à l'état dilué, et agissent alors avec moins d'énergie[1]).

Pour le *Bacillus cyaneo-fuscus*, partant de celle de ses formes qui continuait encore à croître avec sécrétion de pigment dans les solutions de peptone, mais qui ne pouvait plus être cultivée sur gélatine, je me proposai de lui rendre cette dernière propriété. Comme je ne suis pas encore parvenu à restaurer complètement l'activité amoindrie, et que la solution précise de la question, si simple que celle-ci paraisse au premier abord, laisse subsister maints doutes quand on y regarde de plus près, je ne veux pas me prononcer déjà définitivement. Pourtant, je suis, dans ce cas aussi, sur la voie qui conduit à des résultats positifs, et dès à présent je puis affirmer que les *Bacillus cyaneo-fuscus* affaiblis recouvrent leur activité, au moins partiellement, lorsqu'ils sont cultivés pendant longtemps à de basses températures, — assez élevées toutefois pour permettre encore une croissance sensible, — et lorsqu'en outre on fait usage de solutions nourricières étendues, renouvelées assez fréquemment. Il m'a été possible, en effet, après six semaines d'inoculations répétées dans des solutions à $^1/_2$ % de peptone, à une température au dessous de 6° C, de ramener une culture, devenue incapable de vivre sur une gélatine à 10 %, à un état où elle se développait, sur ce terrain solide, en un mélange de petites colonies faiblement liquéfiantes, avec ou sans zone pigmentaire.

Lorsque, en opérant ainsi sur d'autres espèces adaptées à des degrés de chaleur élevés, on les maintient pendant plusieurs semaines à une température très basse (voisine de 0° C., où la croissance est complètement arrêtée), on observe, après l'ensemencement sous des circonstances favorables au développement pour les formes normales, une diminution qui ne disparait qu'après une ou deux inoculations nouvelles sous ces circonstances favorables. J'appuie donc sur la remarque, déjà faite plus haut, que, là où il s'agit de réveiller par un abaissement de température l'activité des formes affaiblies, je regarde comme efficace une température un peu supérieure au minimum encore tout juste suffisant pour la croissance, mais pourtant beaucoup plus basse que la température optimum de végétation des cultures fraîches. Sans croissance aucune, le rétablissement de l'activité des bactéries individuelles affaiblies me paraît impossible.

La conclusion pratique à tirer de ce qui précède, pour la culture des bactéries dans le laboratoire, est, essentiellement, qu'il faut veiller avec soin à ce que les préparations conservées pour des expériences ultérieures ne soient pas exposées à des températures trop voisines de l'optimum de croissance. Ces préparations doivent donc toujours être maintenues à de basses températures, qui peuvent toutefois être différentes, selon les espèces. L'action longtemps prolongée de températures *très*

---

[1]) Pour plusieurs de mes bactéries, reconnues très faibles et difficiles à cultiver, j'ai cherché à les maintenir constantes en mettant une trace de la culture en suspension dans de l'eau de conduite, ou de l'eau de mer. Mais ces essais n'ont donné aucun résultat positif. Peut-être atteindrait-on le but en conservant à l'état sec les formes qui ont prouvé pouvoir supporter la dessiccation. J'ai entrepris des expériences dans cette direction. En ce qui concerne le *Bacillus cyaneo-fuscus*, je n'ai pas encore réussi à le dessécher de telle sorte qu'il reste en vie. Sous ce rapport, toutefois, il y a à tenir compte de beaucoup de circonstances, qui influent sur le résultat de la dessiccation; la plus importante de celles-ci est la proportion des matières dissoutes dans la masse servant à l'expérience.

basses doit également être évitée, vu qu'il peut en résulter une dépression — passagère, il est vrai, mais pourtant bien sensible et temporairement héréditaire — des fonctions les plus importantes. L'emploi d'aliment dilué est aussi à recommander. En suivant ces préceptes, il sera probablement tout aussi facile de cultiver, sans la moindre perte de virulence, les bactéries du choléra, de l'érysipèle, de la morve, du typhus, etc., qu'il l'a été, dans mes expériences sur le *Bacillus cyaneo-fuscus*, organisme si extraordinairement sensible, de maintenir intactes la production pigmentaire et la force végétative.

§ 7.

Déperdition de la force végétative chez les plantes supérieures et chez les animaux.

Dans les lignes suivantes, je désire appeler l'attention sur une analogie qui me semblerait mériter un examen plus approfondi. Je n'apporte à son appui aucun résultat d'expériences personnelles; néanmoins, l'importance du sujet me fait croire que cette première tentative de généralisation, si imparfaite qu'elle soit, ne paraitra pas inopportune.

L'histoire des sciences biologiques citera indubitablement, comme la seconde œuvre capitale de Darwin, la longue série de ses recherches sur la nature de la sexualité. Le résultat général auquel il a été conduit, condensé en une proposition unique, se laisse énoncer en ces termes: La matière reproductrice des plantes et animaux supérieurs est susceptible d'éprouver une déperdition de sa force végétative; le rôle de la sexualité est de prévenir cette déperdition ou, si elle a déjà eu lieu, de la réparer[1]).

Darwin fait voir que cette perte de force végétative, qui s'accompagne souvent de la régression d'autres caractères chez les descendants, peut être la conséquence d'autofécondation ou de reproduction végétative prolongée.

Les recherches et les méditations de Darwin[2]) l'amènent ensuite à conclure que l'essence de la sexualité est le fusionnement de deux protoplastes de la même espèce végétale ou animale, lesquels protoplastes (gamètes, oosphère et spermatozoïde ou contenu du pollen) ne diffèrent l'un de l'autre qu'en ce qu'ils proviennent de deux plantes ou de deux animaux qui ont été engendrés et se sont développés dans des conditions vitales différentes.

Ces découvertes, qui, combinées avec la théorie de la descendance, ont jeté une vive lumière sur des milliers de phénomènes naturels obscurs et de constructions organiques compliquées, constituent l'un des plus grands progrès que les connaissances humaines aient jamais faits, et rivalisent avec cet autre triomphe de la biologie expérimentale contemporaine, la réfutation, par Pasteur, du dogme de l'abiogenèse.

Quand on se demande jusqu'à quel point les phénomènes d'affaiblissement

---

[1]) Ch. Darwin, *The effects of Cross and Selffertilisation in the Vegetable Kingdom*, London 1876. — *The Variation of Animals and Plants under Domestication*, Vol. II. p. 92 seq., London 1875.

[2]) *The Origin of Species by means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life*, 6th ed., p. 76, 234, London 1878. La vue en question se trouve aussi déjà dans la première édition, de 1859.

végétatif, observés par Darwin à la suite de l'autofécondation, concordent avec les phénomènes analogues ci-dessus décrits les bactéries, il semble que le rapport soit assez intime pour qu'on puisse les considérer à un même point de vue; dans les uns et les autres, un effet, il ne s'agit que de deux catégories de faits, — abaissement de l'énergie de croissance et perte de caractères, — fait qui n'admettent qu'une interprétation unique, quelles que soient d'ailleurs les différences qui peuvent exister quant à leurs causes plus lointaines. Que chez les organismes supérieurs il n'ait pu se manifester, sous ce rapport, que des modifications relativement légères, cela est tout naturel, puisque chez eux, où les actes physiologiques sont si étroitement enchaînés et si complexes, une régression un peu profonde serait incompatible avec la vie elle-même. Pour cette raison seule, déjà, il était à présumer que les microbes inférieurs, avec leurs conditions vitales simples, présenteraient les phénomènes d'affaiblissement sous une forme plus aisément accessible à l'observation et dans une extension plus grande.

La facilité relative de l'institution des expériences et la rapidité du développement des bactéries contribuent également à faire de celles-ci des sujets d'étude extrêmement favorables pour ces recherches comparatives.

En admettant maintenant que la déperdition dont il s'agit soit réellement une propriété générale des organismes, tant des plus élevés que des plus rudimentaires, la question se présente de savoir dans quelle mesure des conditions extérieures semblables peuvent déterminer aussi des effets semblables dans les sections les plus éloignées entre elles du système des êtres vivants. Pour obtenir une réponse non ambiguë, il faudra abandonner la voie de l'investigation biologique, suivie par Darwin, et revenir à l'enquête physiologique.

Le premier point à décider sera évidemment celui-ci: Les influences de température ont-elles chez les plantes et les animaux supérieurs, en ce qui concerne les altérations héréditaires de leur énergie de croissance, la même importance que chez les bactéries? En d'autres termes, ces organismes supérieurs éprouvent-ils aussi un affaiblissement végétatif à la suite du développement et de l'accroissement, longtemps continués, aux températures qui doivent être considérées comme les plus favorables à cette fonction?

Chez les animaux à sang chaud, ce devrait être précisément la température du sang qui, par elle-même, causerait le préjudice à la vitalité des cellules reproductrices, préjudice pouvant être réparé par la fusion sexuelle avec un protoplaste d'origine différente[1]).

Chez les animaux à sang froid et chez les plantes, ce seraient les suréléva-

---

[1]) Un argument capital à l'appui de cette manière de voir est fourni, me semble-t-il, par le fait que, même chez les animaux à sang chaud (et plus encore chez les animaux à sang froid), toutes les fonctions n'ont pas le même optimum de température. C'est ainsi, par exemple, que dans le processus respiratoire la quantité d'acide carbonique s'élève certainement encore quand la température dépasse l'optimum pour la croissance, et des différences analogues se rencontrent probablement dans une foule d'autres actes physiologiques. Il ne paraît donc pas impossible que, dans le corps d'un animal à sang chaud, certains processus doivent s'accomplir, nécessairement et continûment, à une température un peu supérieure à celle qui leur conviendrait le mieux dans la durée des temps.

tions de la température du milieu extérieur qui devraient entraîner les effets nuisibles.

Pour les bactéries, comme nous l'avons vu, s'imposait l'hypothèse que la température n'exerce qu'une action indirecte dans la production de l'affaiblissement; ce seraient certains produits d'excrétion de la matière vivante qui détermineraient primairement l'altération proprement dite, héréditaire, du protoplasme, mais l'action de ces produits serait considérablement exaltée par l'élévation de la température. En supposant que cette hypothèse se laisse appliquer aussi aux plantes et animaux supérieurs, il est incontestable qu'une foule de relations et de caractères se trouveraient éclairés d'un jour tout nouveau.

Si dans le dernier énoncé il ne s'agit que d'hypothèses, souffrant à peine un contrôle direct, le précédent se prête tout ou moins à l'institution d'expériences, qui, de haute importance si elles conduisaient à un résultat positif, ne pourraient être regardées comme inutiles dans le cas contraire. Sous ce rapport, le plus simple serait d'expérimenter sur des plantes, et cela de la manière suivante.

Des individus d'origine identique seront cultivés, les uns au-dessus, les autres au-dessous de la température reconnue pour correspondre à l'optimum de végétation, mais dans des conditions d'ailleurs identiques, et telles, que ces individus soient réduits à l'autofécondation. Les descendants provenus des graines de ces deux séries de plantes seront placés dans des conditions égales sous tous les rapports, — égales aussi en ce qui concerne la température, — et abandonnés à eux-mêmes jusqu'à maturité. Finalement, le produit de la récolte sera apprécié suivant la méthode de mensuration de Darwin, c'est-à-dire que la hauteur et le poids des plantes entières, ainsi que le nombre des fruits et des graines, seront déterminés pour chacun des deux groupes et comparés de l'un à l'autre.

Si l'hypothèse se confirme, les descendants par autofécondation des plantes soumises à la chaleur donneront, à la récolte, des nombres inférieurs à ceux que fournira la progéniture, également obtenue par autofécondation, des parents cultivés à une température plus basse que celle de leur optimum de végétation.

Un point essentiel, dans l'exécution de l'expérience, serait que cette température plus basse, à laquelle on cultiverait l'un des groupes de plantes, ne fût pas trop éloignée de celle de l'optimum. Il est probable, en effet, que l'action longtemps continuée de températures très basses déterminerait, tout comme chez certaines bactéries, un abaissement de l'énergie végétative, abaissement héréditaire, au moins pour quelque temps, même à la température optima réelle.

Il est à présumer aussi, en ce qui concerne les plantes soumises à la chaleur, que des températures de beaucoup supérieures à celle de l'optimum donneraient lieu à un affaiblissement végétatif plus énergique que les températures voisines de ce point. On peut croire, enfin, que l'influence de la température pourrait devenir sensible, probablement suivant la nature des espèces, ou bien dès la première nouvelle génération, ou bien seulement après un certain nombre de générations, dérivées les unes des autres par propagation asexuelle ou par autofécondation. Pour cette dernière raison, les recherches comparatives sur des plantes vivaces, cultivées à température supérieure et à température inférieure, offriraient peut-être des chances particulières de succès.

§ 8.

Sur la presence du *Bacillus cyaneo-fuscus* dans le fromage.

Ce sujet demande, vu son importance pratique, à être traité à part; a point de vue de la science pure, il présente un certain intérêt, d'abord à cause des phénomènes de coloration qu'on observe dans le fromage attaque, puis à raison de l'état d'affaiblissement et de dépérissement où tombent les bactéries, par suite des transformations chimiques qui s'opèrent dans la masse caséeuse dès le début de la maturation, et peut-être aussi par suite des changements de température dont ces transformations sont accompagnées.

Quelques mots sur la structure microscopique du fromage ne seront probablement pas déplacés ici, car dans les ouvrages traitant de l'industrie laitière je n'ai trouvé, relativement à cette structure, que des données insuffisantes, de sorte qu'on doit la supposer peu connue. Ce que j'en dirai a principalement rapport au fromage »d'Edam«, très réputé aux Pays-Bas.

La caséine du fromage mûr se présente au microscope sous l'aspect d'une masse compacte, amorphe, dans laquelle on ne découvre que par places des globules de graisse (*f* fig. 7), et qui doit, en tout cas, être imprégnée par imbibition de cette dernière matière. Une coupe mince de fromage laisse encore reconnaitre, outre ces gouttelettes de graisse, des bulles de gaz (*l* fig. 7), disséminées dans la masse caséeuse. Par suite de l'inégalité de pression, les gouttelettes de graisse et les bulles de gaz s'éloignent souvent beaucoup de la forme sphérique.

Si l'observation de ces détails assez grossiers est facile, celle des autres éléments structuraux du fromage l'est un peu moins. Comme tels, un examen attentif m'a fait distinguer: 1° Des sphérocristaux (*t* fig. 7) d'une substance analogue à la tyrosine (peut-être, de la tyrosine elle-même), 2° Des cellules de levure (*h*) du *Saccharomyces tyrocola*, 3° Des bactéries en bâtonnets (*m*) du bacille de l'acide lactique. Parmi ces éléments, les plus importants, de beaucoup, sont les bactéries. Considérons chacun d'eux un peu plus en particulier.

En ce qui concerne les sphérocristaux (*t* fig. 7), je dois faire remarquer q'uon ne peut pas les rencontrer dans toute particule de fromage, qu'elle soit. Dans les fromages fabriqués avec ce qu'on appelle du »petit-lait filant«, fromages qui mûrissent rapidement, les sphérocristaux sont extrêmement communs. La formation en dépend évidemment de causes localisées, et je ne doute pas que l'accumulation, en certains points, des bâtonnets et microcoques lactiques ne joue sous ce rapport le rôle principal. Ces sphérocristaux possèdent, tout comme les grains d'amidon, une petite tache nucléaire, d'où rayonnent les petites aiguilles cristallines à peine visibles. Ce qui nous intéresse ici plus spécialement, c'est l'aptitude de ces corps à emmagasiner la matière colorante brune produite par le *Bacillus cyaneo-fuscus* et à prendre ainsi une couleur presque noire; surtout le corpuscule nucléaire, ci-dessus mentionné, a une grande affinté pour la matière colorante, et il consiste peut-être en une substance protéique particulière, qui se trouverait par rapport à la caséine dans la même relation où la calcoglobuline de Harting[1]) se trouve par rapport à l'albumine, dans les sphérites calcaires que ce savant avait obtenues par la précipitation de solutions albumineuses.

[1]) *l. c.*, p. 59.

Le *Saccharomyces tyrocola* (*h* fig. 7), qui a la propriété d'agir comme ferment sur le sucre de lait et de le transformer en alcool et acide carbonique, se trouve disséminé, quoique assez irrégulièrement, dans toute la masse caséeuse, et n'est manifestement actif que dans les premiers stades de la maturation.

Les bacilles lactiques (*m*: fig. 7) — dans les fromages préparés avec du »petit-lait filant« je n'ai trouvé que des microcoques, dont je n'ai toutefois pas essayé la culture[1]) — sont répandus en nombre immense dans la masse du fromage et se trouvent, pour ainsi dire, partout. Lorsqu'on prépare une gelatine au sérum de lait faiblement acide, et qu'on y trace, avec une aiguille de platine préalablement enfoncée dans le fromage, une ligne d'inoculation, on obtient souvent une file continue de colonies uniquement composées de ferments lactiques, mais seulement des colonies isolées, disséminées entre les premières, de la levure du fromage. En étudiant séparément les colonies développées par le fromage d'Edam, j'y ai trouvé environ cinq variétés constantes, qui se laissent distinguer au moyen de la forme des bâtonnets et se différencient encore par beaucoup d'autres particularités accessoires, mais qui toutes se ressemblent en ce qui concerne l'aptitude à transformer en acide lactique le sucre de lait, le sucre de canne, la maltose, la lévulose, la glucose et la galactose. L'acide lactique produit est l'acide de fermentation ordinaire, dont le sel calcique renferme cinq molécules d'eau de cristallisation.

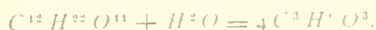
D'accord avec l'extrême abondance des bacilles lactiques dans le fromage, celui-ci renferme une très forte proportion d'acide lactique. Dans divers titrages directs, j'ai eu besoin de 15 à 20cc de potasse normale pour neutraliser 100 grammes de fromage, d'où résulte une teneur en acide lactique de 1,35 à 1,8%[2]). Au premier abord, il paraît singulier que d'aussi fortes quantités d'acide se fassent si peu remarquer dans le fromage; cela tient évidemment à sa teneur en sel, substance dont le goût masque celui de l'acide. Qu'une pareille proportion d'acide détermine la mort complète d'un organisme aussi sensible que le *Bacillus cyaneo-fuscus*, il n'y a certes pas lieu de s'en étonner.

Passons maintenant à ce qui concerne la présence de cette bactérie pigmentaire dans la masse caséeuse, et commençons par examiner la structure microscopique des taches foncées qu'elle y produit[3]). Ces taches se distinguent, de la substance non altérée, en premier lieu par leur couleur. Celle-ci est due à la présence de grains noir bleuâtre ou bruns et d'une matière colorante foncée diffusée dans le fromage lui-même, matière qui se trouve accumulée surtout dans les sphérites de tyrosine. En second lieu, les taches se distinguent de la masse normale par l'entassement, à leur centre, de bâtonnets du ferment lactique; il peut arriver,

---

[1]) Par contre, j'ai cultivé les bactéries du »petit-lait filant« lui-même, de sorte qu'elles me sont bien connues.

[2]) Si, comme expression probable de la fermentation lactique du sucre de lait, on admet l'équation



$$C^{12}H^{22}O^{11} + H^2O = 4C^3H^6O^3,$$

les nombres ci-dessus correspondent exactement aussi à une proportion de 1,35 à 1,8 % de sucre de lait dans la masse caséeuse originelle; c'est à peu près la moitié ou le tiers de la proportion de lactose dans le lait, proportion qui ne s'éloigne pas beaucoup de 3 à 5 %.

[3]) Des taches foncées peuvent naturellement se former dans le fromage par toutes sortes de causes. Quant à l'opinion que le rôle principal dans ce phénomène revient aux bactéries du lait bleu (*Bacillus cyanogenus*), mes recherches ne l'ont pas confirmée.

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

§ [illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

n'a été acquise, — je ne veux pas négliger de le dire, — que lorsque, dans une masse de caséine préparée en faisant cailler du lait frais au moyen de la présure, j'eus réussi à provoquer expérimentalement, par l'inoculation du *B. cyaneo-fuscus*, l'apparition des taches, avec toutes leurs propriétés.

De quelle manière le *B. cyaneo-fuscus* se laisse-t-il isoler des taches? Pour répondre à cette question, je commencerai par décrire les résultats de l'application aux taches du procédé ordinaire à la gélatine.

Cent centimètres cubes de lait de vache, à 35° C, furent additionnés d'un peu de présure en proudre [1]) et, après coagulation, filtrés. Le liquide filtré était parfaitement clair, semblable à du petit-lait à fluorescence verdâtre. On y mêla 1 °/o de peptone sèche, 1 °/o de glucose et 7 °/o de gélatine, puis le tout fut bouilli, filtré et stérilisé. La réaction était amphotère, par suite de la présence de phosphates. Cette gélatine fut coulée en plaques épaisses dans des boîtes de verre, puis utilisée de la façon suivante.

D'abord, à l'aide d'une aiguille, on enleva une parcelle de la masse interne d'un fromage d'Edam, vieux et sain [2]). Cette parcelle fut écrasée à la surface de la plaque de gélatine et étendue en lignes d'inoculation; d'autres fois, elle était délayée dans l'eau, puis cette eau servait à arroser la surface de la gélatine, qu'on laissait ensuite égoutter parfaitement. Les germes susceptibles de se développer sur un terrain contenant du sérum de lait apparaissaient au bout de quelques jours, soit dans les lignes d'inoculation, soit en colonies isolées. Dans un assez grand nombre d'expériences, le fromage sain ne m'a donné de cette manière, — ce qui est d'accord avec les résultats d'observation microscopique rapportés plus haut, — que deux espèces bien caractérisées, à savoir: une levure du sucre de lait, que j'ai nommée *Saccharomyces tyrocola*, et cinq variétés, appartenant à une seule et même espèce, de bactéries lactiques baculiformes; ces dernières sont identiques aux ferments lactiques qui sont les agents essentiels dans la fabrication de l'acide lactique industriel au moyen des céréales, aussi bien que dans la préparation de l'acide du commerce au moyen du lait mélangé de sucre de canne et de fromage putréfié. Les variétés se distinguent l'une de l'autre par la différence de longueur des bâtonnets, assez constante à la reproduction, par la couleur plus ou moins jaunâtre des colonies et par une aptitude différente à produire de l'acide avec le sucre de canne, le sucre de lait et la glucose; mais toutes ces différences sont si peu importantes que je n'ai pas à m'en occuper davantage en cet endroit, d'autant plus qu'il a déjà été question ailleurs de la formation d'acide dans le fromage.

Quand, au lieu de la masse saine du fromage, on choisit pour ces recherches bactériologiques les taches bleues, on obtient les mêmes résultats; seulement, dans ces taches bleues, les bactéries de l'acide lactique sont souvent très fortement accumulées. Cette accumulation doit être expliquée de la manière suivante. Les

[1]) Voyez la Note 1, pag. 356.

[2]) Pour extraire d'une substance un peu de la matière intérieure, sans emporter en même temps quelque chose de la surface, il faut en rompre rapidement un gros morceau, afin d'obtenir des surfaces de cassure fraîches, sans glissements internes. Cela est à recommander surtout lorsqu'il s'agit de l'examen d'échantillons de terre, de parties de plantes et, en général, de substances cassantes.

bactéries en question appartiennent au groupe des organismes à peptone-carbone, c'est-à-dire que pour leur nutrition elles exigent, outre la peptone, l'un ou l'autre composé carboné, par exemple, le sucre de lait comme elles ne secrètent pas d'enzyme tryptique, la caséine ne peut satisfaire à leur besoin d'azote. Elles en sont donc réduites, pour cela, aux peptones de la masse caséeuse. Or, le *Bacillus cyaneo-fuscus* exerçant une très forte action protéolytique et transforment alors la caséine en peptone, les taches bleues sont, précisément à cause de la peptone qui s'y forme en abondance, des lieux de reproduction très favorables pour les bactéries de l'acide lactique. — De bactéries d'autre espèce que les ferments lactiques, je n'en ai pas trouvées dans les taches.

Par ce qui précède, il avait donc été bientôt établi qu'au moyen de la gelatine nourricière indiquée il n'était pas possible d'isoler le *Bacillus cyaneo-fuscus*. J'ai alors étudié les taches de deux autres manières: premièrement, en opérant sur la masse provenant d'une dissolution de 10°/o de gélatine pure dans de l'eau de canal, sans addition d'aucune autre matière: en second lieu, par l'ensemencement direct des taches dans des solutions de peptone diluées. Ces nouveaux essais laissaient espérer un résultat plus favorable, surtout par la raison que, comme nous l'avons vu, ces milieux de culture sont excellents pour le *Bacillus cyaneo-fuscus*, tandis qu'ils excluent complètement les ferments lactiques, dont la croissance exige, en outre des corps azotés susdits, la présence d'une espèce saccharine. Les cellules de levure sont, elles aussi, tout à fait incapables de se développer sur la gélatine pure ou dans une solution de peptone pure.

Pourtant, même ainsi instituées, les expériences de culture du *B. cyaneo-fuscus* ne réussirent pas à l'origine, et cela, aussi longtemps que j'y employai du fromage vieux. Mais quand je m'avisai de mettre à l'œuvre du fromage tout à fait frais, qu'un marchand m'avait spécialement fourni à cet effet, le résultat de trois ensemencements différents révéla que le *B. cyaneo-fuscus* peut parfois se trouver encore à l'état viable, et sans affaiblissement trop prononcé, dans les taches du fromage. Je dois insister, toutefois, sur la circonstance que la teneur en acide de ce fromage jeune était petite, car elle correspondait tout au plus à 5^{cc} de solution potassique normale, pour 100 grammes de fromage. La condition d'une aussi faible proportion d'acide me paraît essentielle pour la réussite des expériences. Il n'y a point de doute, en effet, que l'abondance croissante de l'acide libre, due à la transformation du sucre de lait par les bâtonnets de l'acide lactique, ne cause la mort du *B. cyaneo-fuscus*, ce qui explique pourquoi les taches du fromage vieux donnent toujours un résultat négatif dans les essais de culture.

Ainsi qu'il a été dit, ce sont surtout les solutions peptoniques diluées qui conviennent au développement de notre bactérie pigmentaire; aussi, est-ce avec elles que j'ai obtenu les résultats positifs sus dits. La culture directe sur gélatine, en partant du fromage, ne m'a jamais réussi. Mais lorsque, ayant obtenu au moyen du fromage des cultures de *B. cyaneo-fuscus* dans la solution de peptone, je les laissai, en décembre 1890 et janvier 1891, croître pendant des semaines à des températures variant de 1 à 5° C, en répétant, dès que les liquides verdissaient distinctement, l'ensemencement dans une nouvelle solution nourricière, je parvins finalement à activer une culture au point que la croissance put ensuite s'opérer sur une gélatine à 10°/o dans de l'eau de conduite, avec ou sans addition de

peptone. Les cultures ainsi réalisées étaient, sauf un certain degré d'affaiblissement, parfaitement identiques aux formes spontanément isolées de l'eau.

Il m'intéressait tout particulièrement de savoir si le *B. cyaneo-fuscus* ainsi obtenu peut se développer dans le lait; que la croissance est possible dans la caséine séparée du lait par la présure, c'est ce que m'avaient déjà appris des expériences antérieures. J'ai trouvé que le lait, bouilli ou non, peut effectivement, à basse température, fournir un bon aliment au *B. cyaneo-fuscus*. Les phénomènes de coloration qui se produisent dans ce liquide sont comparables à ceux qui ont lieu dans les solutions de peptone: d'abord le vert, puis le bleu, ensuite le brun et finalement le noir brunâtre. Ce n'est qu'au bout d'un temps assez long que le corps foncé s'oxyde aux dépens de l'oxygène atmosphérique; il laisse alors au lait une teinte brun sale, perceptible pendant des mois, mais qui, comparée à celle des solutions de peptone, pâlit très fortement.

De ce qui vient d'être dit, il ressort la possibilité que quelques rares bactéries de notre espèce, entrées dans le lait, s'y multiplient avant la coagulation par la présure. La lenteur de leur croissance explique pourquoi, dans le fromage mûr, le nombre des taches est, d'ordinaire, relativement petit.

Mais d'où viennent les germes isolés de *B. cyaneo-fuscus* qui causent l'infection première du lait?

D'après ce qu'on a vu au § 1, la réponse à cette question ne saurait être douteuse. Les germes arriveront dans le lait par l'eau ayant servi à nettoyer les seaux et autres ustensiles de la laiterie, ainsi que par toutes les causes de souillure amenant dans le lait des matières humides, exposées à l'infection spontanée par le *B. cyaneo-fuscus*.

J'appuie sur la remarque que le contact du lait avec des matières *humides* est particulièrement à craindre. Plusieurs expériences, en effet, ont eu pour but de décider jusqu'à quel point le *B. cyaneo-fuscus* peut être desséché sans que la mort s'ensuive. Des bandelettes de papier à filtre et des fils de platine furent chargés de culture de ce bacille, séchés, puis introduits dans des solutions de peptone. Comme je n'ai pas réussi, de cette manière, à revivifier l'organisme, je dois admettre que le *B. cyaneo-fuscus* ne se trouve pas non plus à l'état vivant dans les poussières de l'air, et que par conséquent l'infection du lait doit toujours avoir pour point de départ des objets humides[1]. Les solutions très étendues de corps albuminoïdes, — par exemple le lait mêlé d'eau, — qui ont été longtemps abandonnées à elles-mêmes à basse température, seraient tout spécialement à suspecter comme foyers d'infection. Comme sources originelles, toutefois, le rôle principal paraît devoir être attribué, de même que dans mes essais d'isolement, à l'eau de conduite ou de canal, ainsi qu'aux particules de terre. La pratique a donc à tenir compte de pareils habi-

[1]) Les bactéries de la présure, au moyen de laquelle s'opère la coagulation du lait, ne me sont qu'imparfaitement connues. J'ignore si le *B. cyaneo-fuscus* peut vivre dans la présure; la forte proportion de sel ainsi que la présence de l'acide borique dans cette substance rendent la chose improbable. En tout cas, il est à recommander de se servir, pour la fabrication du fromage, de présure en poudre sèche, qu'on fait dissoudre, à la température convenable, dans du lait ou dans de l'eau pure, préalablement bouillie; dans cette poudre, le *B. cyaneo-fuscus* est certainement mort. On peut se procurer une préparation excellente dans la fabrique de produits de lait du docteur H. Graefe, à Alkmaar.

tats, et le seul moyen absolument sûr de rester à l'abri des atteintes de cette bactérie et de toutes les autres espèces nuisibles serait l'emploi général et exclusif de lait retiré à l'état stérile du pis des vaches. Dès l'année 1878, M. Lister a fait voir[1]) que le lait des vaches saines est stérile, et que l'opération de le recueillir en cet état exige à la vérité des soins, mais est à la portée de tout le monde. Une prescription légale à cet égard, d'ailleurs parfaitement justifiée par l'importance hygiénique de l'opération, aurait promptement raison du préjugé de l'impossibilité de celle-ci.

Pour certains buts déterminés il faudrait alors, naturellement, ajouter quelque culture de bactéries. C'est ce qui se fait déjà actuellement en Nord-Hollande, où l'on emploie, dans la fabrication du fromage, le petit-lait dit filant« (culture, dans le petit-lait, d'un microcoque mucipare de l'acide lactique)[2]); un grand progrès est ainsi réalisé, en tant que l'industrie fromagère, encore très primitive au sens bactériologique, peut maintenant combattre avec succès différentes maladies dangereuses, qui attaquent ses produits. De ce nombre est aussi la maladie des taches; dans les fromageries où elle apparaît, le petit-lait filant apporte une amélioration considérable. L'action exercée dans le fromage par ces bactéries mucipares n'est pas encore complètement expliquée, pas plus que n'est élucidé, d'ailleurs, le processus de la maturation en général. Pour ce qui concerne, toutefois, leur antagonisme par rapport au *B. cyaneo-fuscus*, on s'en rend aisément compte. Il dépend de deux facteurs, à savoir, de la production d'acide lactique et de l'absorption complète d'oxygène par l'immense quantité de bactéries mucipares qu'on mêle avec la masse caséeuse. Que les acides empêchent la croissance du *B. cyaneo-fuscus*, nous l'avons déjà vu précédemment. Quant au nombre des bactéries, pour s'en faire une idée, il suffit de savoir qu'aux 25 litres de lait, employés à la fabrication d'un fromage d'Edam, on ajoute, en même temps que la présure, 1/2 litre de »petit-lait filant«; or, cette substance ne consiste pour ainsi dire qu'en une agglomération de bactéries excessivement petites, lesquelles, lorsqu'on fait écouler le petit-lait, restent presque toutes, à cause de leur nature mucilagineuse et gluante, enfermées dans le fromage, dont le volume n'atteint pas trois décimètres cubes. Qu'une pareille masse de bactéries, accumulée dans un si petit espace, puisse, tant par la formation d'acide lactique que par l'absorption d'oxygène, entraver ou prévenir le développement de bactéries aussi sensibles que le *B. cyaneo-fuscus*, il n'y a certes pas lieu de s'en étonner.

Laboratoire Bactériologique de la Fabrique Néerlandaise
de Levûre et d'Alcool à Delft

---

[1]) *Transactions Pathological Soc. of London*, T. XXIX, 1878.

[2]) En Hollandais *»lange wei«*. J'ai examiné cette matière remarquable par les méthodes bactériologiques, et j'ai trouvé que l'organisme mucipare est un ferment lactique qui produit aussi un arome agréable, et dont la propriété la plus intéressante est de perdre bientôt, dans les cultures pures, la falculté de rendre le petit-lait filant; elle se change alors en un ferment lactique ordinaire. Je n'ai pas encore eu l'occasion de rechercher la cause de ce phénomène. Voyez aussi: H. Weigmann, *Der Organismus der sogenannten »lange Wei«*, dans: *Milchzeitung*, Jahrg. 8, p. 982, 1880.

C'est un simple paysan d'Assendelft qui a découvert, il y a une quarantaine d'années l'utilité et l'usage de cette substance, devenue populaire seulement dans les derniers temps par les efforts de Mr. Roekel.

Explication des Figures.

Fig. 1. Couche de gélatine (10% de gélatine et ½% de peptone dans de l'eau de conduite), avec colonies de *Bacillus cyaneo-fuscus*, dans une boîte de verre. *gw* Paroi de la boîte, *dg* couvercle tourné vers le bas. Les colonies, fortement liquéfiantes, consistent en une couche de bactéries *bs*, appliquée sur la gélatine *ge;* tout autour, se trouve la zone brune *dz* de la matière colorante diffusée dans la gélatine, avec cristaux disséminés de carbonate de chaux.

Fig. 2. Œuf cuit dur et dépouillé de sa coque, avec plages d'inoculation du *B. cyaneo-fuscus*, liquéfiées au centre. (Comp. fig. 6.)

Fig. 3. Cultures de *B. cyaneo-fuscus* dans de l'eau de conduite contenant ½% de peptone, à la température de 6° C.

- *a.* Premier stade, ou stade vert, au cinquième jour après l'inoculation.
- *b.* Stade bleu, au septième jour; la teinte brune est produite par oxydation à partir de la surface et se change bientôt en gris.
- *c.* Stade brun, du neuvième jour.
- *d.* Stade noir, au treizième jour.
- *e.* Culture décolorée par l'oxydation lente sous l'influence de l'oxygène de l'air; dérivée du stade noir, au bout de deux mois, à la température de 6° C.

Fig. 4. Aspects des bactéries des cultures peptoniques.

- *a.* Le liquide bleu du petit matras *b* fig. 3.
  - α. Bactéries incolores, vivantes, souvent mobiles.
  - β. Bactéries brunes, mortes.
  - γ. Corpuscules de matière colorante bleue.
  - δ. Corpuscules de couleur foncée à facettes cristallines.
- *b.* Pellicule bactérienne, provenant d'une culture *d* fig. 3. Toutes les bactéries sont vivantes et très uniformément unies en une pellicule continue, dans laquelle on voit disséminées les sphérites de matière colorante bleue.

Fig. 5. Cultures de *B. cyaneo-fuscus* sur gélatine (10%) dissoute dans de l'eau de conduite.

- α. Bactéries vivantes.
- β. Bactéries mortes, brunes.
- γ. Sphérites bleues.
- δ. Corpuscules de matière colorante bleue, à facettes planes.
- ε. Aiguilles cristallines de tyrosine (?) et druses cristallines de carbonate de chaux.

Fig. 6. Culture sur l'œuf cuit de la fig. 2. Les bactéries sont fréquemment agglomérées en masses membraneuses ou zoogléiques; on voit figurées deux lamelles ainsi produites, colorées en gris uniforme.

Du reste, la masse est composée de bactéries vivantes, fusiformes ou baculiformes, de corps bactériens morts, bruns, de corpuscules de matière colorante noire, à facettes planes, et de sphérocristaux du pigment bleu d'outremer.

Fig. 7. Représentation demi-schématique de la structure du fromage et d'une partie d'une »tache bleue« formée par le *Bacillus cyaneo-fuscus*.

- *l.* Cavités remplies d'air.
- *m.* Ferment lactique.
- γ. Corpuscules de matière colorante noire et sphérites.
- *f.* Gouttelettes de graisse.
- *h.* Cellules de la levure *Saccharomyces tyrocola*.
- *t.* Sphérites de tyrosine, elles-mêmes de couleur intense, en tant que situées dans la tache.

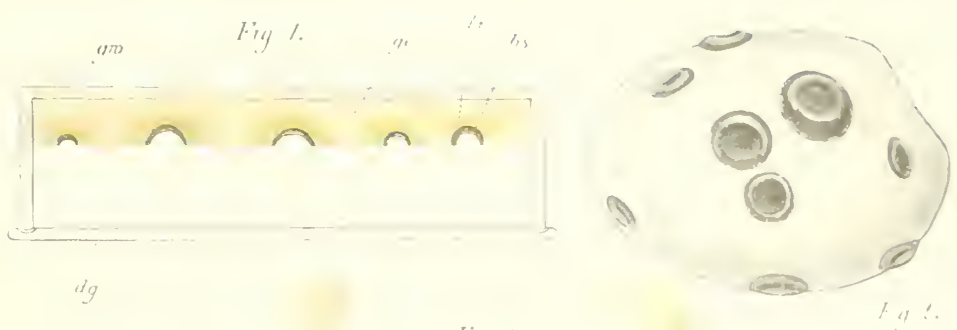
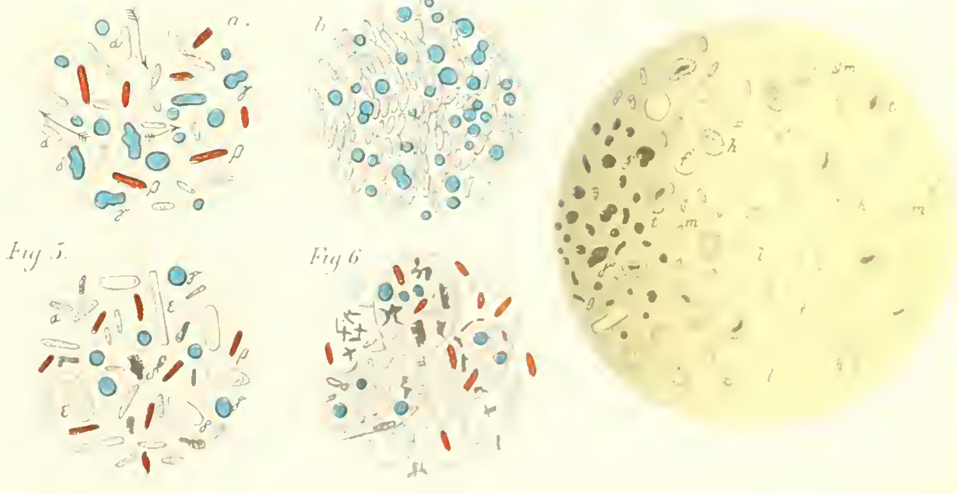

Fig 1.
am
dg


Fig 3
a
b
c
d
e

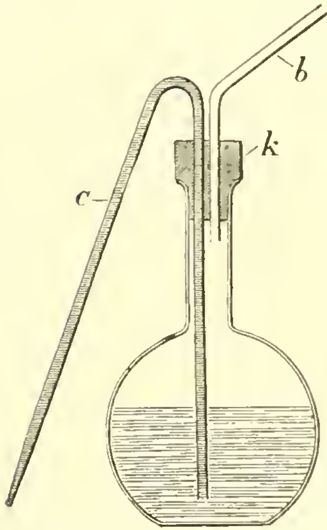

Fig 4.
a
b
Fig 5.
Fig 6
Fig 7.

Die Kapillarhebermikroskopirtropfenflasche.

Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, Jena. IX. Band, 1891, S. 589—590

Zur Herstellung dieser kleinen, aber beim Mikroskopiren sehr nützlichen Einrichtung verfährt man wie folgt:

Aus einer gewöhnlichen Spritzflasche mit Kork (*k*) entfernt man das Ausflussrohr und setzt an die Stelle desselben einen Kapillarheber (*c*), welcher durch Reibung im Korke zurückgehalten wird und sich leicht auf- und abschieben lässt. Letzterer hat die Gestalt eines gewöhnlichen Hebers, wovon aber das eine Bein in eine Kapillarröhre ausläuft, so dass der mit Flüssigkeit angefüllte Heber, selbst in relativ schiefer Lage, die Flüssigkeit, in Folge der Oberflächenspannung an der feinen Oeffnung, zurückhält. Berührt man die Oeffnung aber mit irgend einem Gegenstand, z. B. mit einem Objektträger, so fliesst sofort ein Tropfen aus, dessen Grösse man willkürlich regeln kann. Stellt man die Flasche sehr schief, — wofür sich zweckmässig ein Kartonring verwenden lässt, — oder drückt das Abflussrohr durch den Kork nach unten, so findet man bald einen Stand, worin der Heber von selbst zu arbeiten anfängt, derweise, dass ein Strom von Tropfen in beliebigem Tempo herausfliesst, was beim Auspinseln von mikroskopischen Präparaten nützlich ist. Das Anfüllen des Kapillarhebers geschieht durch Blasen in das zweite Rohr (*b*).



c Kapillarheber. *b* Rohr zum Anfüllen des Kapillarhebers durch Blasen. *k* Kork.

Durch Schiefstellung der Flasche nach rückwärts fängt der Heber im entgegengesetzten Sinne zu wirken an. Nimmt man deshalb die Flasche in die Hand und taucht die Kapillarspitze in einer Flüssigkeit unter, so kann man beliebig diese Flüssigkeit einsaugen oder die Flüssigkeit aus der Flasche auslaufen lassen. Dieses Spiel eignet sich vorzüglich für das Einfangen von Infusorien und anderen kleinen Wasserthieren aus Uhrgläsern, ferner für das Anfüllen der Kapillarröhre mit farbigen Lösungen zur Vertheilung auf den Objektträger. Füllt man dabei das Kapillarrohr nur theilweise an, so lässt der Farbstoff sich daraus gründlich durch die direkte Heberwirkung entfernen, ohne dass die Flüssigkeit im Kölbchen verunreinigt wird.

Diese Einrichtung entstand aus dem Wunsche, von einer Bakterienkultur in einem Kölbchen, ohne Vermischung, und von jedem beliebigen Niveau Material für Mikroskopie und Aussaat entnehmen zu können. Da auch dieser Zweck sehr gut erreicht wird, könnte der Apparat auch heissen das „Kapillarheberbakterienkulturkölbchen".

Impr.: F. Bruckmann A.G. und J. B. Obernetter, Munchen